

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA VACCINATION CHARBONNEUSE

PAR M^{me} O. METCHNIKOFF.

I

L'étude de l'immunité en général peut tirer un grand secours de recherches sur l'immunité artificielle, parce qu'on connaît les facteurs de cette immunité; après avoir inoculé les vaccins qui servent à la conférer, on peut, en sacrifiant les animaux à diverses époques, étudier la suite des phénomènes qui accompagnent l'acquisition de l'état réfractaire.

Cette question a déjà été l'objet des recherches suivantes.

MM. Roux et Chamberland¹ constatèrent, dans leur travail sur la vaccination des lapins contre le charbon, que les bactéries du premier vaccin, injectées dans les veines, disparaissent très promptement du sang; par contre, elles se conservent beaucoup plus longtemps dans la rate, qui donne des cultures encore 12, 24 et 48 heures après l'injection (et même dans un cas après 140 heures). Cette persistance de la bactéridie est attribuée à la présence de spores dans la culture inoculée,

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, n^o 11, 1887.

car, déjà 4 heures après l'injection, la majorité des bactéridies est englobée dans les cellules de la rate et se colore difficilement. Ainsi les bacilles du vaccin charbonneux ne pullulent pas dans l'organisme, et l'immunité relative qu'ils lui confèrent pourrait être due à l'introduction des produits de leur culture, ou à ceux de leur destruction.

M. Bitter¹ a fait des expériences sur des moutons pour savoir si, à la suite d'une inoculation sous-cutanée du vaccin, il existait une immunité locale plus ou moins étendue ou, au contraire, une immunité générale. Il a aussi étudié la généralisation des vaccins dans l'organisme. Il résulte de ses observations que ces vaccins ne se généralisent pas (il n'a jamais pu obtenir de cultures, ni des organes, ni du sang), mais qu'ils sont détruits au point d'inoculation. Les ensemencements avec la peau et le tissu sous-cutané en ce point ne donnèrent de culture qu'une seule fois sur cinq expériences. Quant aux préparations microscopiques, elles démontraient toujours la présence d'une quantité plus ou moins grande de bacilles presque constamment libres et en voie de dégénérescence; ce n'est que rarement qu'ils étaient englobés dans les cellules, malgré une leucocytose très prononcée au point d'inoculation. Par suite, M. Bitter affirme que la destruction des bacilles n'est pas due aux éléments cellulaires.

Du travail de M. Gamaléia² sur les vaccinations charbonneuses, il résulterait que l'immunité contre le charbon n'est conférée qu'à la suite d'une fièvre vaccinale, pendant laquelle les bacilles se propagent du point d'inoculation dans le sang et dans tous les organes; ils y sont détruits, et les débris de leur désagrégation sont ensuite éliminés par les reins dans l'urine. Ces conclusions résultent de l'examen de préparations étalées, colorées par le bleu de méthylène, et d'ensemencements faits avec les organes. Ceux-ci ne donnaient que rarement des cultures, qui ne tuaient jamais les animaux et ne provoquaient même pas de symptômes morbides. Pour M. Gamaléia, la destruction des bacilles ne s'opère que partiellement dans les cellules, notamment dans les macrophages de la rate, de la moelle des os et des autres organes; le plus souvent elle se produit

1. *Zeitschrift für Hygiene*, t. IV, 1888.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, n° 10, 1888.

hors des cellules. M. Gamaléia rattache le mécanisme de cette destruction des bacilles libres aux propriétés acquises des milieux de l'organisme dépourvus de cellules. Il ensemence des spores de bactéridies dans l'humeur aqueuse d'animaux ayant eu une fièvre vaccinale, et comme il n'obtient jamais ainsi de cultures normales, il conclut que le milieu a subi une modification chimique, et que la destruction des bactéridies est principalement due à un changement de même nature dans les milieux de l'organisme de l'animal vacciné. Ce changement serait provoqué par la fièvre vaccinale, pendant laquelle les leucocytes émigrés sécrèteraient des produits chimiques, nuisibles au développement des bactéridies.

M. Wyssokovicz¹ se rattache à l'opinion de MM. Roux et Chamberland sur la question de la vaccination par les produits des bacilles. Il croit que les bactéridies ne se propagent point dans l'organisme : il ne les a jamais vues ni dans les organes, ni dans le sang, ni dans l'urine, ni dans la bile. Quant au mode de leur destruction, il affirme que les leucocytes ne prennent jamais part à la lutte contre les microbes. De tous les éléments cellulaires, seules les cellules fixes détruisent les bacilles.

M. Lubarsch² a fait des expériences sur des lapins et des moutons. Dans ses essais sur les lapins, il se bornait à chercher ce que deviennent les bacilles introduits sous la peau, ce qui ne se rapporte pas directement au sujet dont nous nous occupons. Sur deux moutons inoculés sous la peau avec des vaccins, M. Lubarsch n'a pas trouvé de généralisation des bacilles. Dans un cas il constata une phagocytose très prononcée au point d' inoculation ; dans l'autre il ne rencontra que peu de phagocytes.

II

Le but principal de ce travail est de rechercher si l'immunité contre le charbon est due à une généralisation des vaccins, et d'étudier la réaction des éléments cellulaires envers eux. Si les bacilles des vaccins ne se propagent pas, il faut admettre avec MM. Roux et Chamberland que la vaccination est due aux produits de la culture injectée ou à ceux de la destruction des

1. *Wratch*, nos 22 et 23, 1888, et *Annales de l'Institut Pasteur*, n° 6, 1889.

2. Recherches sur les causes de l'immunité naturelle et acquise, 1891.

bactéridies dans le corps des animaux. S'il y a généralisation, c'est à l'effet direct des bacilles eux-mêmes, ou aux produits qu'ils élaborent dans l'organisme, qu'il faut attribuer la vaccination. D'autre part, si les bactéridies sont extracellulaires dans les organes et au point d'inoculation, et si les ensemencements restent stériles dans les humeurs dépourvues de cellules chez les animaux vaccinés, il faut admettre avec M. Gamaléia l'influence chimique des humeurs dans la destruction des vaccins. Dans le cas où les humeurs ne seraient pas devenues impropres à la culture, c'est surtout à l'activité phagocytaire des cellules qu'on devra attribuer la disparition des bactéridies vaccinales.

Les expériences ont été faites sur des moutons et des lapins. On employait des vaccins pastoriens en cultures dans du bouillon et ayant moins de 24 heures, afin qu'elles ne contiennent ni spores ni formes dégénérées qui auraient pu induire en erreur.

Le contrôle de l'activité des vaccins était fait, avant les inoculations, sur des souris, des cobayes et des lapins¹.

Les moutons que l'on employait pour les expériences étaient des mérinos de la province de Kerson, de la même race que ceux qui ont servi à M. Gamaléia. Il y en a eu dix, dont deux témoins. Tous, excepté un, furent inoculés par $1/8$ cc du premier vaccin, qui avait tué une souris grise en 30 heures. Quelque temps avant l'inoculation, on prenait la température des moutons deux fois par jour. Elle oscillait entre 39,2 et 40,5.

1^{er} VACCIN. Quatre moutons furent sacrifiés pour les recherches sur le premier vaccin. Comme il est peu probable que la généralisation s'opère dans un temps très court, ce n'est qu'après quinze heures que le premier mouton fut tué. Les autres

1. Les vaccins employés pour les moutons étaient ceux de la station bactériologique d'Odessa, tandis que pour les lapins on avait des vaccins de l'Institut Pasteur. L'effet vaccinal fut prouvé par un nombre considérable de lapins immunisés par les mêmes vaccins, et par la différence notable que présentèrent deux moutons témoins (un vacciné et l'autre non vacciné), vis-à-vis de l'inoculation du virus. Quoique ce dernier, d'origine ancienne, fut trop faible pour tuer le mouton non vacciné, il lui donna une maladie grave et de longue durée avec des températures s'élargissant jusqu'à 42,3 (Voir la table des températures). Le témoin vacciné ne ressentit par contre aucun malaise, et ne présenta aucune élévation de température.

le furent après 24, 46 et 70 heures. La température de trois de ces moutons avait subi une certaine élévation (chez l'un d'eux elle était montée de 39,5 à 41,1), chez le quatrième elle était restée normale. (Voir l'*appendice*.)

Comme phénomènes locaux on n'a constaté qu'une légère hypérémie du tissu sous-cutané. Une seule fois, chez le mouton tué après 46 heures, on a trouvé un œdème insignifiant. Tous les organes étaient complètement normaux.

Ils furent ensemencés, ainsi que le sang, l'urine et le tissu sous-cutané au point d'inoculation.

Ce dernier seul donna des cultures de bactéridies et seulement chez les moutons tués 15 et 24 heures après l'inoculation.

Pour définir la virulence de ces cultures, on inocula 1/8 de centimètre cube de celle du mouton, tué après 24 heures, à une souris grise. Elle succomba 5 jours après, avec tous les symptômes caractéristiques du charbon.

Quant aux moutons sacrifiés, les préparations étalées de leurs organes, de leur sang et de leur urine ne montraient, après coloration par le bleu de méthylène ou la méthode de Gram, ni bactéridies normales ou dégénérées ni de leurs débris. Le même fait fut constaté sur les coupes, colorées par la méthode de Gram.

Les préparations faites avec le tissu sous-cutané du point d'inoculation démontrent une leucocytose très prononcée; les bactéridies y étaient en quantité plus ou moins grande. Sur les préparations étalées, faites après 15 et 24 heures, elles étaient fréquemment libres, mais il y en avait aussi dans les microphages qui étaient plus ou moins en voie de dégénérescence.

Sur les coupes du tissu sous-cutané, faites après 46 heures, c'est-à-dire au moment où on a sacrifié l'animal, le tissu est complètement infiltré par des masses de leucocytes, qui ont englobé une quantité de bacilles plus grande que celle que l'on trouvait chez les moutons sacrifiés après 15 et 24 heures. Ce n'est qu'entre les faisceaux connectifs que l'on rencontre des bacilles et des filaments libres.

Les bactéridies dégénérées sont contenues dans les cellules; elles sont en forme de bâtonnets à bords rongés et en tronçons séparés ou en chapelets; parfois elles ne se colorent que très mal.

Comme il est facile de suivre tous les stades de dégénérescence depuis le bâtonnet normal jusqu'à ses derniers débris, il

est indubitable que c'est vraiment à des bacilles charbonneux dégénérés que l'on a affaire, et que leur destruction s'opère dans les cellules mêmes. Dans les préparations, faites par les mêmes procédés avec les organes, on ne voit rien de semblable, ce qui prouve que les organes ne contiennent pas en quantité appréciable de bacilles ou de leurs débris.

Pour se rendre compte des changements chimiques, produits dans les humeurs par la fièvre vaccinale qui suit l'inoculation du 1^{er} vaccin, des ensemencements furent faits dans l'humeur aqueuse du mouton qui avait eu une température de 41,1.

Des spores du 2^e vaccin (sur fil de soie) germèrent dans ce milieu après 16 à 20 heures. Elles donnèrent des cultures abondantes et tout à fait normales. La dimension des bacilles était celle des bactéridies ordinaires du 2^e vaccin, et ils prenaient très bien la matière colorante.

2^e VACCIN. On inocula les cinq autres moutons, dont un témoin, avec le 2^e vaccin. Le contrôle de la virulence fut fait sur des lapins russes qui, plus petits que les lapins de Paris, sont toujours tués par le 2^e vaccin. Ils succombèrent après 60-63 heures, avec tous les symptômes du charbon, et des bactéridies dans le sang.

Des quatre moutons employés pour les recherches sur le 2^e vaccin, le premier fut sacrifié après 18 heures ; les autres, après 40, 63 et 87 heures. Ce n'est que chez le mouton tué après 40 heures qu'on a observé une élévation de température notable : 41,7. Chez les autres elle n'avait pas dépassé 39,5 — 39,9.

Les moutons tués après 18 et 40 heures avaient une hypérémie du tissu sous-cutané au point d'inoculation ; chez ceux qui furent sacrifiés plus tard, l'hypérémie était plus prononcée et il y avait en outre un œdème. Dans tous les cas les organes étaient normaux, excepté la rate qui fut trouvée plus molle et plus foncée chez les moutons tués après 63 et 87 heures.

Des ensemencements furent faits avec le sang, l'urine, les organes et le tissu sous-cutané au point d'inoculation.

Seul ce dernier donna dans tous les cas des cultures charbonneuses caractéristiques. Quant aux organes, un seul ensemencement de la rate du mouton tué après 40 heures donna une culture ; tous les autres restèrent stériles ainsi que ceux du sang et de l'urine. Les cultures qui s'étaient développées conte-

naient des bactéridies tout à fait normales dans leur croissance, leur dimension, et dans la façon dont elles se coloraient. Pour définir leur virulence, on les inocula à des lapins. Un huitième de centimètre cube de culture de la rate du mouton (sacrifié après 40 heures) inoculé sous la peau d'un lapin le tua après 47 heures. Le tissu sous-cutané de l'abdomen du lapin était très œdémateux, et le sang contenait une petite quantité de bactéridies caractéristiques.

On peut conclure de cette expérience que les bacilles parvenus dans la rate étaient virulents. C'est pour cela sans doute qu'ils avaient pu échapper à l'action cellulaire au point d'inoculation, et pénétrer jusque dans cet organe.

D'autres lapins furent inoculés avec des cultures obtenues du tissu sous-cutané des moutons tués après 40, 63 et 87 heures.

Les lapins qui reçurent les deux premières cultures (de 40 h. et 63 h.) furent très malades, eurent de gros œdèmes, mais finirent par se rétablir. Le troisième lapin (de 87 h.) succomba après trois jours avec tous les symptômes caractéristiques du charbon et avec une quantité de bacilles dans le sang. Peut-être la virulence de ces cultures était-elle moindre que celle du vaccin inoculé: sur les préparations du tissu cellulaire du point inoculé, on voit que déjà après 40 heures la majorité des bacilles est englobée dans les microphages, et qu'il n'y a que très peu de bactéridies libres et normales; la plupart sont au contraire en voie de dégénérescence et dans l'intérieur des cellules. Les coupes démontrent que tout le tissu au point d'inoculation est infiltré de leucocytes.

Il se peut donc que les bacilles soient affaiblis, quoique encore en état de donner des cultures.

Sur les préparations faites avec les organes, le sang et l'urine, on ne trouvait nulle part de bacilles soit normaux, soit dégénérés. Même sur les coupes faites avec la rate qui avait donné une culture, on n'a pas réussi à en trouver, ce qui prouve que la quantité des bactéridies y était bien petite.

Quant aux expériences sur la germination des spores dans l'humeur aqueuse de l'animal fébricitant, elles donnèrent les mêmes résultats que celles faites avec le 1^{er} vaccin. Des spores du 1^{er} et du 2^e vaccin, et aussi du charbon virulent germèrent dans l'humeur aqueuse du mouton qui avait eu une température

de 41,7. Elles se développèrent toutes le lendemain de l'ensemencement. Leur croissance était abondante et caractéristique ; les bactéridies étaient en forme de bâtonnets et de longs filaments tout à fait normaux.

De ce qui précède on peut tirer les conclusions suivantes : Chez les moutons, les deux vaccins provoquent des phénomènes locaux et opèrent leur effet à cause de leur culture locale ; les bactéridies ne pullulent point dans l'organisme, mais sont détruites sur place par les éléments cellulaires, surtout les leucocytes ; la pénétration des bacilles dans les organes est un phénomène rare, ne pouvant avoir par suite d'importance dans la vaccination de l'animal. Enfin les humeurs, dépourvues de cellules, des animaux vaccinés, ne contiennent pas de produits nuisibles au développement des bactéridies.

III.

Les résultats des expériences faites sur les lapins¹ concordent en général avec ceux qui viennent d'être exposés.

1^{er} VACCIN. Le mode d'inoculation du premier vaccin est très favorable à l'étude des relations entre les cellules et les bacilles, puisque ces derniers sont introduits directement dans le système sanguin.

On a sacrifié les lapins 30 minutes, 45 minutes, 1 heure, 2 heures, 3 heures, 3 heures 1/2, 4, 6, 24 et 48 heures après l'inoculation. Le sang, l'urine et les organes étaient examinés etensemencés.

Les bacilles disparaissent très promptement du sang, comme cela a été décrit par MM. Roux et Chamberland. Déjà une demi-heure après l'injection il y en a très peu et, au bout d'une heure, on ne parvient plus à les trouver ni par un examen microscopique, ni par la culture. On n'observe point de bacilles dans l'urine. Déjà une demi-heure après l'injection, on trouve la ma-

1. Les expériences étaient faites sur des lapins français et on employait les vaccins ordinaires.

On inoculait 35^{cc} du 1^{er} vaccin dans la veine de l'oreille. Chez trois des lapins sacrifiés pour les expériences sur le 2^e vaccin, on a injecté une quantité plus faible, de 5 à 25^{cc}, parce que le vaccin avait été renforcé. — On inoculait 0,25^{cc} du second sous la peau, 7 jours après la seconde inoculation du 1^{er} vaccin.

ajorité des bactéries englobée dans les microphages principalement, mais aussi dans les macrophages. C'est surtout dans les poumons qu'on trouve une quantité de bacilles; cela s'explique peut-être parce que, étant introduits dans le système veineux, ils parviennent premièrement dans le poumon et y sont retenus en partie. Dans tous les organes, la majorité des bacilles est englobée par les cellules; on rencontre des formes plus ou moins dégénérées, mais il y a encore des bâtonnets libres et complètement normaux. C'est dans les reins que les bacilles sont le moins nombreux; il est exceptionnel d'en rencontrer.

Tous les ensemencements faits avec les organes 45 minutes, 1 et 2 heures après l'inoculation, donnèrent des cultures. Sur les préparations, on pouvait observer les mêmes phénomènes qu'après une demi-heure, avec cette différence que le nombre des bactéries englobées dans les microphages et macrophages était d'autant plus grand qu'un animal avait été sacrifié plus longtemps après l'inoculation; alors la grande majorité des bacilles était dégénérée, il y en avait très peu de libres et normaux.

Déjà, après trois quarts d'heure, les bacilles sont beaucoup plus rares dans les organes que dans la première demi-heure qui suit l'injection.

La virulence des cultures faites avec les organes est éprouvée en inoculant à une souris blanche la culture de la rate d'un lapin, tué une heure après l'inoculation. Elle succomba le 7^e jour. Avant de périr, il semble donc que les bacilles du 1^{er} vaccin subissent une diminution dans leur virulence.

Les organes d'un lapin tué après 3 heures servirent à faire des ensemencements multipliés; la rate seule donna une culture, et seulement trois jours après l'ensemencement. Une souris, inoculée par cette culture, résista.

Trois heures et demie après l'inoculation, les ensemencements des organes ne donnèrent plus de cultures. Sur les préparations étalées et sur les coupes, on trouvait tous les bacilles englobés dans les microphages et macrophages et en voie de dégénérescence plus ou moins avancée.

Aucun des ensemencements faits avec les organes d'animaux inoculés depuis plus longtemps, ne donna de cultures. On n'a pu davantage trouver de bactéries sur les préparations.

Ces expériences prouvent que les bacilles du 1^{er} vaccin ne

pullulent point dans l'organisme, mais y sont détruits par les cellules dans un temps très court, notamment près de 3 heures 1/2 après l'injection.

DEUXIÈME INOCULATION DU 1^{er} VACCIN. A quatre lapins, qui avaient déjà reçu le 1^{er} vaccin, on injecta une dose de 35^{cc} du même vaccin, ainsi que cela se pratique quand on veut donner l'immunité à ces animaux. Ils furent sacrifiés 1, 2, 3 et 6 heures après cette seconde inoculation.

Les ensemencements des organes du lapin, tué une heure après l'inoculation, donnèrent tous des cultures normales et caractéristiques; le sang et l'urine restèrent stériles. Sur les coupes on trouvait la majorité des bacilles plus ou moins dégénérés et englobés dans les microphages et macrophages.

De tous les organes du lapin tué après 2 heures, les poumons et les reins fournirent seuls des cultures. Sur les coupes on a pu constater que presque tous les bacilles étaient dégénérés et englobés dans les microphages et macrophages; on n'en trouvait que très rarement de libres.

Le rein du lapin tué 3 heures après l'inoculation fut le seul organe qui donna une culture.

Chez les animaux sacrifiés après 6 heures, tous les organes ensemencés restèrent stériles.

Ainsi on obtient les mêmes résultats avec le 1^{er} vaccin inoculé une deuxième fois; la seule différence consiste, peut-être, en ce que les phénomènes de destruction des bacilles se produisent un peu plus promptement: déjà 2 heures après l'inoculation, une partie seulement des organes donne des cultures. Ce fait peut être expliqué par l'accoutumance partielle de l'organisme au 1^{er} vaccin.

2^e VACCIN. Pour l'étude des phénomènes produits chez les lapins par le 2^e vaccin, on a inoculé ces animaux sous la peau avec 0^{cc},25 de ce vaccin, 7 jours après qu'ils avaient reçu dans la veine les deux injections préparatoires du 1^{er} vaccin.

Ils ont été sacrifiés à des temps variables après l'inoculation; le premier à partir de la 6^e heure, car il n'est pas probable que la généralisation se produise plus tôt. Les vaccins employés tuaient les souris et les cobayes.

Les ensemencements faits avec le sang, l'urine et les organes du lapin tué 6 heures après l'inoculation, restèrent tous stériles. Deux lapins furent tués 12 heures après l'inoculation. Leur sang et leurs organes ne donnèrent point de cultures.

On ensemenza le tissu sous-cutané pris au point d'inoculation d'un de ces lapins ; il donna une culture qui fut inoculée à un cobaye. Celui-ci résista.

Les ensemencements faits avec le sang et les organes d'un lapin tué 24 heures après l'inoculation restèrent stériles.

Deux lapins furent sacrifiés après 24 heures. La rate de l'un et le rein de l'autre donnèrent des cultures. On inocula deux cobayes avec la dernière de ces cultures. L'un d'eux résista, l'autre succomba après trois jours, avec les symptômes caractéristiques du charbon. Ainsi on retrouve un affaiblissement de la virulence comme chez le mouton, car les cobayes de contrôle qui recevaient directement le 2^e vaccin employé, mouraient au plus tard 40 heures après l'inoculation.

Le sang et les organes de ces deux lapins restèrent stériles. Il en fut de même pour le sang, l'urine et tous les organes du lapin tué 48 heures après l'inoculation.

Chez l'un des deux lapins, tués 42 heures après l'inoculation, le sang, l'urine et tous les organes restèrent stériles ; chez l'autre on obtint une culture avec le rein ; les autres organes et le sang n'en donnèrent point.

48 heures après l'inoculation, des ensemencements multipliés restèrent stériles.

Ainsi sur les dix expériences faites avec le 2^e vaccin chez les lapins, ce n'est que dans trois cas que l'on obtint des cultures tantôt d'un organe, tantôt d'un autre ; encore dans ces cas, sur plusieurs ensemencements, un seul se montrait fécond.

Tout cela démontre que les bacilles du 2^e vaccin ne se répandent que rarement en dehors du point d'inoculation.

Quant aux préparations étalées (colorées par la méthode Gram et le bleu de méthylène) du sang, de l'urine et de la pulpe de la rate, des poumons, du foie et des reins, elles ne démontrent ni bactéridies normales, ni bactéridies dégénérées, ni leurs débris. L'examen des coupes donna les mêmes résultats.

Les faits, observés dans le courant de ce travail, permettent de tirer les conclusions suivantes :

Les bacilles du vaccin charbonneux produisent leur effet en se cultivant au point d'inoculation, sans se propager nécessairement dans l'organisme; ils ne pénètrent qu'exceptionnellement et à un faible degré dans les organes. La vaccination est donc due aux produits des bacilles, qui se diffusent du point d'inoculation dans l'organisme.

La destruction des bacilles a lieu au point d'inoculation et s'opère par l'activité phagocytaire des micro- et macrophages.

La vaccination consiste sans doute dans l'accoutumance des éléments cellulaires aux produits toxiques des bacilles.

Cette dernière conclusion est appuyée sur le fait que, chez l'animal vacciné, les vaccins et le virus se développent normalement dans l'humeur aqueuse, dépourvue de cellules, tandis qu'ils sont détruits dans l'organisme où ils deviennent accessibles à l'influence de ces dernières.

APPENDICE

Température des moutons avant les inoculations.

NUMÉROS.	15 AOUT		17 AOUT		18 AOUT	
	10 H. M.	6 H. S.	10 H. M.	6 H. S.	10 H. M.	6 H. S.
1	39.6	40.3	40.0	40.1	39.4	39.6
2	39.7	40.0	39.8	40.0	40.0	39.3
3	39.8	40.2	39.8	40.0	39.4	39.5
4	40.1	40.2	39.9	40.0	40.0	39.2
5	39.4	39.5	39.3	39.7	39.3	39.5
6	39.5	39.9	39.8	40.3	40.0	39.8
7	39.6	40.0	39.4	39.9	39.9	39.5
8	39.6	40.4	39.3	39.9	39.7	39.5
9	39.9	40.3	39.7	40.1	39.8	39.8
10	39.3	40.5	39.6	40.1	39.8	39.9

Température des moutons après le premier vaccin.

NUMÉROS.	19 AOUT.		20 AOUT.		21 AOUT.		27 aout.		28 AOUT.		»	
	10 H. M.		5 H. S.		10 H. M.		4 H. S.		10 H. M.			
	10 H. M.	5 H. S.	10 H. M.	4 H. S.	10 H. M.	4 H. S.	10 H. M.	4 H. S.	10 H. M.	5 H. S.		
1.....	39.5	39.7	39.5	39.4	39.4	39.3	39.7	40.4	40.1	»		
2.....	39.2	39.7	39.0	39.2	39.4	39.4	38.7	39.3	39.4	»		
3.....	39.2	39.9	39.5	39.7	39.4	39.4	39.5	40.3	39.3	»		
4.....	39.8	41.1	»	»	»	»	»	»	»	»		
5.....	39.4	39.8	39.2	39.2	38.9	39.2	39.3	39.6	39.4	»		
6.....	39.7	40.0	39.6	39.6	39.4	39.6	39.0	39.8	39.3	»		
7.....	40.6	»	»	»	»	»	»	»	»	»		
8.....	39.3	39.8	39.6	39.4	»	»	»	»	»	»		
9.....	39.8	39.7	39.2	39.7	39.3	39.4	39.5	39.4	39.9	»		
10.....	39.7	39.7	39.4	39.4	39.5	39.6	»	»	»	»		

Température des moutons après le second vaccin.

NUMÉROS.	29 AOUT.		30 AOUT.		31 AOUT.		1 ^{er} sept.		7 sept.		»	
	9 H. M.		11 H. M.		9 H. M.		5 H. S.		9 H. M.			
	9 H. M.	11 H. M.	9 H. M.	5 H. S.	9 H. M.	5 H. S.	9 H. M.	5 H. S.	9 H. M.	9 H. M.		
1.....	38.8	»	41.7	»	»	»	»	»	»	»		
2.....	39.5	»	39.0	39.3	39.3	»	»	»	»	»		
3.....	»	»	»	»	»	»	39.2	39.2	»	»		
5.....	39.4	»	39.7	39.8	39.4	39.7	39.5	39.8	»	»		
6.....	39.7	»	39.2	39.9	39.4	39.7	39.5	»	»	»		
9.....	39.7	39.5	»	»	»	»	»	»	»	»		

Température des témoins après l'inoculation du virus.

NUMÉROS.	7 sept.		8 SEPTEMBRE.		9 SEPTEMBRE.		10 SEPTEMBRE.		14 SEPTEMBRE.		16 sept.	
	7 H. S.		9 H. M.		5 H. S.		9 H. M.		5 H. S.		11 H. M.	
	7 H. S.	9 H. M.	5 H. S.	9 H. M.	5 H. S.	8 H. M.	6 H. S.	10 H. M.	5 H. S.	11 H. M.	7 H. S.	9 H. M.
3.....	40.5	41.2	41.9	42.2	42.3	41.8	42.1	41.7	41.1	39.8		
5.....	39.5	39.2	39.4	39.1	39.1	39.8	39.5	39.2	39.6	39.2		

SUR UN RÉGULATEUR
DE
TEMPÉRATURE APPLICABLE AUX ÉTUVES
PAR M. ROUX.

Les étuves à température constante sont indispensables aux bactériologistes : aussi a-t-on imaginé un grand nombre de régulateurs de température applicables à ces appareils. Il y en a d'excellents qui ont fait leurs preuves. Cependant nous croyons rendre service aux travailleurs en leur faisant connaître un régulateur robuste, simple en même temps que précis, et qui fonctionne depuis plusieurs années à l'Institut Pasteur sans avoir nécessité de réparation.

Ce régulateur est formé de deux barres métalliques, l'une en acier, l'autre en zinc, soudées ensemble sur toute leur longueur et recourbées ensuite en forme d'U.

Le métal le plus dilatable, le zinc, étant en dehors, toute élévation dans la température tendra à rapprocher les branches et tout abaissement les écartera l'une de l'autre. Pour une variation donnée de température, le mouvement des branches de l'U sera d'autant plus étendu que les coefficients de dilatation des deux métaux soudés ensemble seront plus différents ; c'est pour cette raison que l'on a réuni le fer et le zinc. Il faut que les barres métalliques soient assez fortes pour ne pas faire *pincettes*, c'est-à-dire que leurs extrémités doivent rester bien rigides et ne pas se rapprocher d'une façon sensible quand on les serre entre les mains. La réunion de deux métaux de dilatation inégale permet, avec des barres de longueur modérée, d'avoir un déplacement assez étendu. Ces régulateurs bi-métalliques ont été souvent employés, notamment par M. Schaffer, professeur de physiologie à University Collège.

Il y a diverses façons d'utiliser le mouvement des branches pour régler le débit du gaz qui se rend au brûleur de l'étuve. On peut faire écraser le tube de caoutchouc conduisant le gaz entre les deux branches métalliques qui se rapprochent par l'échauffe-

ment et diminuer ainsi la flamme. On peut encore fixer une des branches de façon qu'elle soit immobile, et ajuster à l'autre une tige qui suivra ses mouvements et ira ouvrir ou obstruer l'arrivée du gaz combustible. Les mouvements dus à la dilatation du régulateur bi-métallique peuvent être amplifiés au moyen de leviers, et on augmente ainsi la sensibilité de l'appareil.

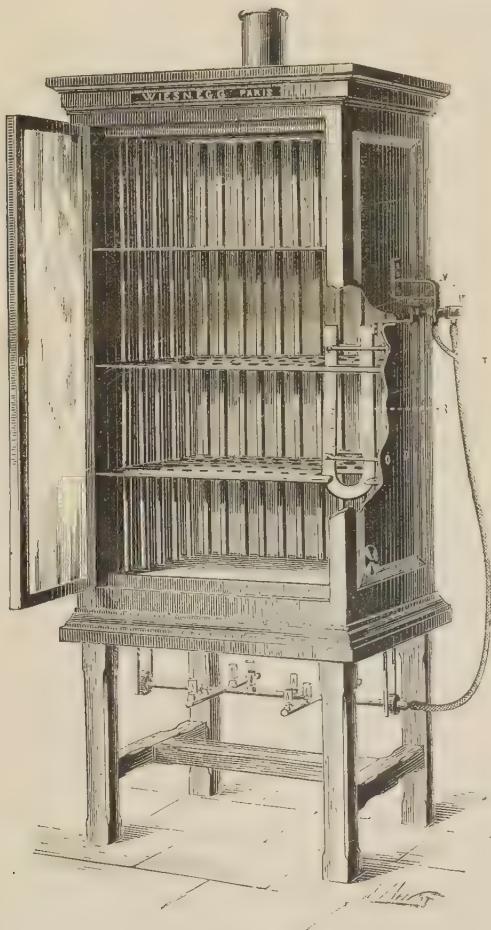


Fig. 4.

Ce régulateur est adapté aux étuves du modèle Pasteur construites par M. Wiesnegg, qui sont très employées dans les laboratoires de microbie (fig. 4); elles sont en effet assez vastes sans être

encombrantes. Depuis que M. Schribaux a remplacé le chauffage à vapeur par le chauffage direct au gaz, elles sont devenues plus commodes encore et consomment très peu de gaz. Le régulateur est placé verticalement près d'une paroi latérale, l'ouverture de l'U vers le haut : une des branches A (fig. 2), la plus éloignée de la paroi, est fixée à l'étuve, l'autre, qui seule peut se déplacer, porte une tige horizontale qui sort de l'étuve par une ouverture suffisante pour qu'elle puisse s'y mouvoir librement. A sa sortie de l'étuve, cette tige est recourbée à angle droit et traversée par une vis *p*, qui peut être fixée à un point quelconque de sa course au moyen d'un écrou *e*. L'extrémité de cette vis peut être amenée au contact d'une petite soupape qui commande l'écoulement du gaz et qui complète l'appareil.

Cette soupape *o*, est formée par un obturateur conique, en laiton, fixé sur une tige qui traverse le tube d'arrivée du gaz. Un petit

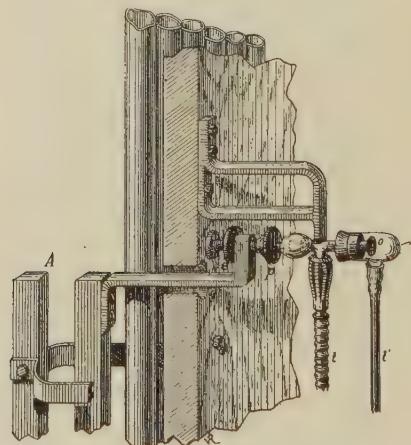


Fig. 2.

ressort, placé dans ce tube même, maintient l'orifice de sortie fermé tant que l'on n'appuie pas sur l'extrémité de la tige de l'obturateur, mais si celle-ci est légèrement repoussée, le tube est ouvert, le gaz se répand dans la petite chambre en verre *r*, et se rend au brûleur par une tubulure. Une petite ouverture, pratiquée dans l'obturateur, laisse passer assez de gaz pour maintenir la flamme du brûleur en veilleuse quand la soupape est fermée. Cet obturateur joue donc le rôle d'un robinet sensible et facile à ouvrir au moyen d'un mouvement en ligne droite et

peu étendu. Il est fixé à la paroi extérieure de l'étuve en face de la tige du régulateur et à peu de distance d'elle, de façon qu'il soit actionné par elle quand on amène la vis à son contact. Un coup d'œil jeté sur la figure ci-jointe fera mieux comprendre le jeu de l'appareil que les détails que nous pourrions ajouter.

Les choses étant ainsi disposées, pour régler l'étuve, on tourne la vis jusqu'à ce que, pressant sur l'extrémité de la tige, elle ouvre largement la soupape et on allume le brûleur. Lorsque le thermomètre placé dans l'étuve marque à moins de $1/2$ degré la température que l'on veut atteindre, on tourne la vis jusqu'à ce qu'elle affleure l'extrémité de la tige. L'étuve est alors réglée; en effet, si elle se refroidit, les branches du régulateur s'écartent, et la vis appuyant de nouveau sur la tige, ouvre l'arrivée du gaz.

Le fonctionnement est très régulier ainsi que le montre le tracé du thermomètre enregistreur (fig. 3). Les grandes oscil-

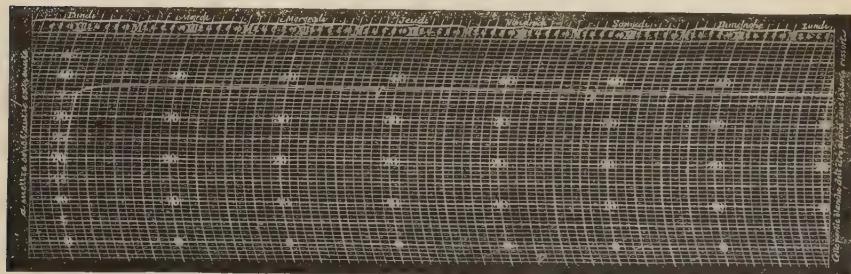


Fig. 3.

lations marquent les ouvertures de l'étuve, mais on voit qu'en marche régulière l'écart maximum ne dépasse pas un demi-degré.

Chaque étage de l'étuve a une température spéciale, mais constante.

Cet appareil, tout à fait robuste, peut être porté à de hautes températures. Avec quelques modifications il peut être employé à régler une étuve chauffée au pétrole ou à l'alcool. Pour l'empêcher de se rouiller dans un milieu humide, on le recouvre d'une couche de noir mat.

La température est très constante avec les deux modèles d'étuve que M. Wiesnegg a munis de ce régulateur. Dans les étuves de dimensions plus petites, le fonctionnement est moins bon parce que le volume d'air est trop petit pour le régulateur, qui

doit avoir une certaine masse si l'on veut lui conserver sa rigidité et sa sensibilité. Pour que la température se maintienne au même degré, il est nécessaire qu'il se fasse un renouvellement lent de l'air; on réalise cette condition au moyen des ventouses dont l'étuve est munie.

De même que le mouvement de la branche mobile du régulateur ouvre et ferme l'arrivée du gaz, de même elle peut régler le débit d'un courant d'eau, qui refroidira l'étuve en passant dans des tubes de plomb disposés dans son intérieur. Le même appareil peut être un régulateur de froid comme un régulateur de chaleur. En été il est très commode, pour les cultures en gélatine, d'avoir une armoire maintenue ainsi à une température de 23° par un courant d'eau. Le régulateur bi-métallique rend la chose facile.

RECHERCHES SUR LA DIGESTION INTRACELLULAIRE CHEZ LES PRÓTOZOAIRES (2^e PARTIE)

Par FÉLIX LE DANTEC.

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Dans une première note¹, j'ai exposé les divers résultats que l'emploi de l'alizarine sulfoconjuguée permet d'obtenir chez les Rhizopodes; ce réactif donne également des renseignements précieux sur la digestion intracellulaire chez les Infusoires ciliés, et démontre chez les animaux de ce groupe l'existence de phénomènes de même genre, et même plus intenses.

Le tournesol nous a donné de mauvais résultats quand nous l'avons employé pour l'étude des *Péririches*: au contraire, l'alizarine sulfoconjuguée est très avantageuse pour les recherches sur ce groupe dont je prends comme type un genre colonial à pied ramifié rétractile, le *Carchesium*. Un rameau détaché d'une colonie de ces êtres continue à vivre dans les conditions normales, et c'est toujours avec des petits groupes de quatre à cinq individus qu'il convient de faire les préparations.

En disposant en goutte suspendue un de ces groupes avec un peu d'alizarine violette, on peut avoir deux résultats différents suivant les cas.

Le premier cas est celui où les animaux étudiés ont été pris dans un bocal très riche en substances nutritives; alors chaque individu est opaque et bourré de vacuoles, et l'on peut attendre très longtemps sans assister à l'ingestion d'un grumeau d'alizarine, quoique le mouvement ciliaire continue à agiter l'eau à

1. *Annales Inst. Past.*, 25 décembre 1890.

l'extrémité orale; dans ce cas, cette agitation de l'eau semble avoir pour but d'assurer bien plus la respiration que la nutrition; il y a une pléthora qui s'oppose à la formation de nouvelles vacuoles.

Le second cas est celui où les animaux sont, au contraire, soumis depuis quelque temps à un jeûne relatif. Alors, au bout de 7 à 8 minutes, on voit dans l'intérieur de chaque individu, trois à quatre vacuoles colorées de diverses teintes de la zone sensible; quelquefois, quand l'animal est très affamé, les vacuoles nouvelles se produisent successivement avec rapidité, et on les voit former un chapelet dans le prolongement de l'entonnoir œsophagien, la plus rose étant la plus éloignée de l'œsophage devant lequel un grumeau violet tourbillonne en attendant l'ingestion. Cette disposition linéaire des vacuoles avait fait croire à Ehrenberg¹ que toutes ces *vésicules stomachales* pendaient à un boyau intestinal; mais elle ne dure pas longtemps; au bout de 40 à 50 minutes, les vacuoles colorées sont dispersées dans la masse du protoplasma. J'en ai vu jusqu'à 7 dans un même individu, les unes roses, les autres jaunes. Il y a donc une production d'acide très évidente dans les vacuoles digestives de ces êtres. On peut conserver longtemps ces préparations à la chambre humide; cependant, au bout de deux ou trois jours, les individus qui portaient au début le plus de vacuoles colorées sont arrondis sur leur pied contracté, et colorés en rose violet; ils sont morts, tandis que d'autres individus de la même branche ont encore un protoplasma très hyalin avec des vacuoles colorées plus récentes; il est donc probable que l'alizarine ingérée en grande quantité leur nuit à la longue.

Cette nocuité lente du réactif n'infirme pas la valeur des résultats, car il suffit de 25 à 30 minutes pour qu'un grumeau ingéré au violet limite devienne jaune dans une vacuole. La sécrétion d'acide est donc beaucoup plus rapide que chez les Rhizopodes. Elle l'est assez pour que l'on soit sûr de la nature d'un grumeau coloré ingéré, sans écraser l'animal où sans ajouter de l'ammoniaque à la préparation, car le virage progressif dans la zone sensible est au moins aussi caractéristique

1. EHRENBURG, *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen*, Leipzig, 1838.

Il est facile de s'assurer, par le même procédé que pour les Amibes, que le contenu de la vacuole, au début, est toujours de l'eau extérieure; seulement, ici, la sécrétion d'acide étant plus rapide, le grumeau à teinte sensible ingéré ne conserve guère sa nuance plus d'une demi-minute. Ce court laps de temps suffit à démontrer irréfutablement l'ingestion de l'eau, qui, quoique décrite par Dujardin¹ il y a bien longtemps, a été niée depuis par des observateurs plus récents. Je dois reproduire ici la description très remarquable que Dujardin a donnée du phénomène de l'ingestion:

« Le courant produit dans le liquide (par le mouvement vibratile) vient heurter incessamment le fond de la bouche qui est occupé seulement par la substance gélatineuse vivante de l'intérieur; il la creuse en forme de sac ou de *tube* fermé par en bas, et de plus en plus profond, dans lequel on distingue par le tourbillon des molécules colorantes le remous que le liquide forme au fond. Les particules s'accumulent ainsi visiblement au fond de ce tube, sans qu'on puisse voir en cela autre chose que le résultat physique de l'action même du remous. En même temps que le tube se creuse de plus en plus, ses parois formées, non par une membrane, mais par la substance glutineuse seule, tendent sans cesse à se rapprocher en raison de la viscosité de cette substance et de la pression des parties voisines; enfin elles finissent par se rapprocher tout à fait, et se soudent vers le milieu de la longueur du tube en interceptant toute la cavité du fond sous la forme d'une vésicule remplie d'eau et de matières colorantes. »

Nous voyons encore ici, comme chez les Rhizopodes, la tension superficielle du protoplasma au contact du liquide extérieur, lutter contre l'introduction des matières étrangères dans le protoplasma; le mouvement produit dans l'eau par les cils vibratiles, rend l'ingestion plus facile en déterminant au fond de l'entonnoir œsophagien une pression antagoniste de cette tension superficielle. Une autre particularité se joint à celle-là pour faciliter l'ingestion.

Nous avons vu que les vacuoles restent, quelque temps après

1. DUJARDIN, *Histoire naturelle des Infusoires*, Paris, 1841.

leur formation, au voisinage du fond de l'œsophage. A ce moment, si l'on observe l'animal de profil, on constate que le contour apparent de ces vacuoles est une ellipse dont le grand axe est dans le prolongement de l'axe de l'entonnoir. Dans les *Amibes* où le protoplasme était homogène, ces vacuoles étaient toujours sphériques parce que leur pression interne, partout égale, était équilibrée en tous points par une résistance uniforme. Chez le *Carchesium*, la forme ellipsoïdale de la vacuole montre que la résistance est moindre dans la direction de l'axe de l'œsophage, puisque le rayon de courbure de la vacuole est plus faible aux extrémités de cet axe. Ce phénomène manifeste une différenciation tout à fait comparable à celles que MM. Balbiani et Fabre Domergue ont décrite chez certains Infusoires qui ont un *parcours vacuolaire* tracé jusqu'à l'anus. Dans tous les cas, on voit que cette particularité permet à une pression plus faible de creuser plus profondément le *tube* de Dujardin, c'est-à-dire rend l'ingestion plus facile.

Dans le même ordre d'idées, constatons que les vacuoles devant suivre, au moins au début, un parcours déterminé, la présence d'un grand nombre de vacuoles dans le corps de l'animal détermine un encombrement dans cette première portion différenciée du parcours, lequel encombrement empêche la formation d'un *tube* de Dujardin assez profond; c'est ainsi que le phénomène de pléthore signalé plus haut s'oppose mécaniquement à la production de nouvelles vacuoles.

En répétant souvent l'observation précédente de l'ingestion de l'alizarine par un *Carchesium*, je me suis facilement convaincu que la sécrétion d'acide a lieu avec la même rapidité dans des vacuoles contenant une substance animale ou végétale, et dans des vacuoles ne contenant que des substances minérales non nutritives.

Chez ces animaux bien plus compliqués, nous obtenons donc jusqu'à présent deux résultats communs avec les *Rhizopodes*:

- a.* L'eau extérieure est ingérée avec les matières solides.
- b.* Une sécrétion acide a lieu dans la vacuole, dans tous les cas.

Ces résultats se vérifient facilement chez les autres Périthriches.

Chez l'*Épistylis*, les phénomènes de pléthore sont encore plus remarquables que chez le *Carchesium*, mais la différenciation

du parcours vacuolaire semble moindre, car les vacuoles sont moins allongées au voisinage de l'œsophage. La sécrétion acide est d'ailleurs moins rapide ; en partant du violet limite on arrive bien rarement au jaune ; l'effet nuisible de l'alizarine se manifeste auparavant par la mort de l'animal.

Il en est de même de quelques *Vorticelles*. Tandis que la *V. Convallaria* et la *V. Microstoma* donnent une coloration jaune à l'alizarine violette à peu près aussi vite que le *Carchesium*, je n'ai, au contraire, jamais vu de vacuole jaune chez la *V. nebulifera* quand j'ai nourri cet Infusoire avec de l'alizarine à teinte limite ; les animaux de cette espèce meurent au bout de un à deux jours, ayant toujours eu les vacuoles roses.

Quand cette particularité se présente, on pourra croire que la sécrétion de l'acide dans la vacuole cesse dès que son contenu a acquis un certain degré de neutralité, c'est-à-dire que de l'eau non alcaline n'excite plus la sécrétion. J'ai démontré que cette hypothèse n'est pas fondée en nourrissant des individus de ces espèces avec de l'alizarine très rose, à teinte 4, par exemple. Dans ces conditions, j'ai obtenu des vacuoles jaunes, ce qui prouve que le contenu de ces vacuoles peut devenir effectivement acide.

Le résultat négatif obtenu en partant du violet ne peut donc s'attribuer qu'à la lenteur de la sécrétion, jointe à l'action nuisible de l'alizarine ingérée.

Je me suis proposé de constater la sécrétion acide dans une vacuole chez un grand nombre d'Infusoires, de mesurer la rapidité de cette sécrétion, et d'étudier le contenu des vacuoles où une sécrétion acide était mise en évidence, au point de vue de la présence ou de l'absence des matières alimentaires.

La première partie de ce programme était facile à remplir, car après avoir nourri des Infusoires avec de l'alizarine sulfo-conjugée violette, il suffit de voir passer l'un d'eux, même très vite, dans le champ du microscope, et de constater qu'il porte une vacuole rose, pour affirmer que ses vacuoles sont le siège d'une sécrétion acide.

Je n'ai pu en réaliser la 2^e partie que pour les grosses espèces visibles à l'œil, et que l'on peut isoler dans une goutte suspendue ; enfin j'ai pu faire l'étude du contenu des vacuoles chez les grosses espèces, en ralentissant leurs mouvements par un apla-

tissement discret sous le couvre-objet; mais il est plus simple et plus général de tuer les Infusoires à observer avec de l'acide osmique dont les vapeurs dissoutes en très petite quantité dans la goutte ne modifient pas la couleur de l'alizarine. Les résultats de cette troisième série de recherches m'amènent à adopter pour l'exposition des phénomènes la classification, proposée par M. Maupas¹, des Infusoires, en *Ciliés à tourbillon* et *capteurs*.

I. *Ciliés à tourbillon*. Parmi les espèces fixes, outre les *Vorticelliens*, nous trouvons les *Stentors* que nous avons déjà étudiés au moyen du tournesol. L'alizarine donne une vérification des résultats obtenus chez le *Stentor Resselii*, mais semble nuisible au *S. polymorphus* et au *S. ceruleus*.

Chez le *Paramecium Bursaria*, il faut environ une heure pour qu'un grumeau violet devienne jaune; il faut un peu moins de temps chez le *P. aurélia*, mais il en faut beaucoup plus (3 heures environ), chez le *Colpoda Cucullus*.

Il est très difficile d'observer la sécrétion acide chez le *Spirostomum ambiguum*, quoique cette sécrétion soit très rapide (trois quarts d'heure environ pour passer du violet au jaune). Les individus de cette espèce portent, en effet, peu de vacuoles, même dans les milieux très nutritifs; l'alizarine teint leur corps en violet pâle sans paraître leur nuire.

J'ai simplement constaté l'existence d'une sécrétion acide chez le *Strombidium sulcatum* et les *Euplates*, trop petits pour être isolés.

Chez tous les Infusoires à tourbillon j'ai constaté que l'ingestion des substances non alimentaires est très fréquente. La sécrétion acide se fait avec la même rapidité dans les vacuoles contenant l'alizarine seule ou l'alizarine accompagnée de substances animales ou végétales. Pour compléter ces résultats, j'ai nourri des *Paramécies* avec du lait coloré en violet par l'alizarine et avec de l'amidon de riz mis en suspension dans une solution violette d'alizarine.

Il est très curieux de voir avec quelle rapidité les Infusoires ingèrent ces substances qui ont à peu près toutes deux les mêmes dimensions (globules gras et grains d'amidon de riz) et qui sont

1. MAUPAS, *Arch. de zool. exp. et gén.*, 1888, p. 186.

rejetées sans avoir subi aucune modification sensible. Avec le lait, par exemple, j'ai vu une *Paramécie* contenir au bout d'une heure 27 vacuoles colorées des diverses nuances de la zone sensible. Chaque vacuole contenait un groupe de globules gras baigné dans un liquide aqueux coloré. De même pour les grains d'amidon.

II. *Ciliés capteurs.* J'ai étudié dans ce groupe des *Glaucomes*, des *Prorodons*, des *Nassules* et des *Coleps*.

Dans tous ces genres j'ai constaté la production d'un acide dans les vacuoles. Chez le *Colepshirtus*, la couleur passe du violet au jaune en moins d'une demi-heure.

Je n'ai jamais vu chez ces animaux une vacuole contenant exclusivement de l'alizarine. Toutes les vacuoles contenant de l'alizarine étaient le siège d'une sécrétion acide, mais elles contenaient toutes, avec la matière colorante, une substance alimentaire d'origine animale ou végétale. Ceci prouve que les *capteurs* sont susceptibles de choisir leur nourriture ; c'est une sélection différente de celle dont M. Greenwood¹ supposait les *Amibes* capables, en admettant que dans ces animaux il ne se faisait pas de sécrétion autour des substances ingérées non nutritives. Toutes les observations que j'ai faites me permettent, au contraire, d'affirmer qu'il y a toujours sécrétion d'un acide dans les vacuoles des *Infusoires* vivant librement dans l'eau.

J'ai spécifié avec intention qu'il s'agissait des *Infusoires* vivant librement dans l'eau ; je n'ai pu, en effet, trouver aucune sécrétion analogue chez un *Infusoire* parasite du rectum de la grenouille, le *Nyctotherus cordiformis*. Cet être vit au milieu du mucus glaireux de ce rectum, et se nourrit de ce qu'il contient ; il ingère naturellement ce mucus comme les *Infusoires* de l'eau ingèrent l'eau, et ses vacuoles en sont pleines. Cet animal qui vit facilement plusieurs jours quand on délaie dans de l'eau le contenu du rectum, n'ingère rien pendant son séjour dans ce milieu ; jamais il ne porte une vacuole contenant de l'eau.

C'est donc seulement pour les *Infusoires* vivant librement dans l'eau que nous établissons les conclusions suivantes :

1. GREENWOOD, *On the digestive process in some Rhizopods. Journal of Physiology*, 1886.

1^o Chez tous les Infusoires étudiés, les matières solides ingérées sont toujours accompagnées dans la vacuole d'ingestion d'une certaine quantité de l'eau extérieure ;

2^o Les *Infusoires à tourbillon* ingèrent indistinctement toutes les matières solides existant en suspension dans le liquide où ils vivent. L'ingestion est limitée par une sorte de pléthore, qui, dans certains cas, semble s'opposer mécaniquement à la formation de nouvelles vacuoles.

Les *Infusoires capteurs* semblent, au contraire, faire un choix dans leur ingestion ; ils n'avalent de substance non nutritive qu'avec une substance véritablement alimentaire, à laquelle la première était peut-être adhérente.

3^o Dans tous les cas, chez les Infusoires étudiés, la vacuole digestive est le siège d'une sécrétion acide qui neutralise d'abord l'alcalinité de l'eau ingérée, et qui continue, quand la neutralité est atteinte, de façon à donner au contenu de la vacuole une acidité effective. Cette sécrétion se manifeste avec la même intensité dans les vacuoles contenant des matières solides animales, végétales, ou minérales ;

4^o Il y a des différences très considérables dans la rapidité de la sécrétion d'acide chez les diverses espèces, et dans la nocuité pour chacune d'elles des substances chimiques ingérées, ce qui paraît indiquer des différences notables dans la constitution du protoplasma chez ces espèces ;

5^o Chez toutes les espèces pour lesquelles le tournesol nous a donné des résultats, on peut ajouter que l'acide sécrété semble le même, et que c'est un acide fort.

Nous aurions maintenant à nous demander où se secrète cet acide. Il semble bien que sa sécrétion ne soit localisée nulle part, au moins chez les Amibes. La vacuole est à l'origine une simple goutte d'eau noyée au milieu du protoplasma. Mais comment ce protoplasma donne-t-il naissance à une sécrétion acide ? C'est là une question que l'on peut éclairer en invoquant des phénomènes de dialyse, et que je réserve pour une étude ultérieure.

ACTION DE L'ACIDE SULFUREUX

SUR QUELQUES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS

ET EN PARTICULIER SUR LES LEVURES ALCOOLIQUES

PAR M. G. LINOSSIER.

La pratique du mutage des vins, l'emploi de l'acide sulfureux pour la conservation des liquides fermentescibles, son usage comme antiseptique, donnent quelque intérêt à l'étude de l'action toxique de ce gaz sur les organismes inférieurs. Nous ne possérons sur ce point, en dépit de nombreux travaux, que des notions assez confuses. Le motif en est que les expérimentateurs, cherchant à se rapprocher le plus possible des conditions réalisées dans la pratique, se sont à peu près exclusivement appliqués à déterminer le poids de soufre qu'il est nécessaire de brûler dans une enceinte limitée pour détruire les organismes qui s'y trouvent. Or il est clair que ce poids sera fort différent, suivant que les organismes seront à l'état sec ou en suspension dans un liquide; dans ce dernier cas, la seule fraction active du gaz toxique est celle qui se dissout dans le liquide, et qui, si elle augmente avec la richesse de l'atmosphère en acide sulfureux, ne lui est pas forcément proportionnelle; des conditions multiples de température, de pression, de profondeur de la couche liquide, d'agitation, etc., entrent en jeu pour la modifier, et il en résulte dans toutes les déterminations une incertitude extrême. La notion qu'il importerait avant tout de posséder, la seule que l'on puisse espérer acquérir avec quelque précision, c'est celle de la dose d'acide sulfureux dissous qui peut détruire en un temps donné un organisme déterminé maintenu au sein de la dissolu-

tion : c'est précisément ce dont se sont le moins occupé les expérimentateurs qui ont abordé le problème de l'action toxique de l'acide sulfureux.

J'ai cherché à combler, dans une certaine mesure, cette lacune en déterminant la toxicité de l'acide sulfureux dissous, à l'égard des levures alcooliques et de quelques autres champignons inférieurs.

* * *

Même ainsi défini, le problème n'est pas sans présenter quelque difficulté, car cette toxicité est éminemment variable : elle varie non seulement d'un organisme à un autre, mais encore, pour le même organisme, avec la durée du contact de l'être vivant avec l'agent toxique, la température et la composition chimique du milieu au sein duquel est réalisé ce contact ; elle varie suivant que l'organisme étudié est jeune ou vieux, elle varie enfin selon le degré de résistance individuelle de chaque cellule, et cette résistance est souvent très différente même chez des cellules d'une même descendance.

Toutefois, pour chaque espèce, dans des conditions expérimentales toujours aussi identiques à elles-mêmes que possible, il existe pour toute substance toxique des doses qui ne tuent jamais, des doses qui tuent quelquefois, et des doses qui tuent toujours : c'est la dose minimum parmi les doses constamment toxiques que je me suis appliqué à déterminer.

Pour ce faire, je préparais une série de solutions d'acide sulfureux dans l'eau distillée, renfermant par litre 500, 200, 100, 40, 20, 10, 4 et 2 centimètres cubes de gaz¹ ; le titre était déterminé à l'aide d'une solution titrée d'iode. A 100^{cc} de chacune d'elles, j'ajoutais 4^{cc} d'une culture pure et récente du champignon soumis à l'expérience ; les mélanges ainsi obtenus étaient immédiatement transvasés dans des flacons que l'on remplissait jusqu'au goulot et qu'on maintenait soigneusement bouchés. Après un quart d'heure, six heures, vingt-quatre heures et quelquefois après cinq jours, je prélevais une goutte du contenu de chaque flacon, pour la transporter dans un liquide aussi favo-

1. On a admis qu'un litre d'anhydride sulfureux pèse constamment 2 gr. 7, en nombre représentant son poids moyen dans les conditions de température et de pression dans lesquelles ont été effectuées ces expériences.

rable que possible à la culture du champignon, et j'observais s'il se produisait un développement.

Le tableau I résume les résultats des expériences.

La première colonne fait connaître la nature des champignons soumis à l'action toxique de l'acide sulfureux, cè sont :

1° Une levure de bière basse provenant d'une brasserie lyonnaise;

2° Une levure recueillie sur des raisins blancs;

3° Une levure trouvée à la surface de raisins de Corinthe;

4°, 5°, 6° Trois levures extraites d'une fermentation spontanée de moût de fraises;

7° La mycoleuvre de M. Duclaux;

8° et 9° Deux variétés de *mycoderma vini* extraites du même voile mycodermique;

10° Le champignon parasite qui provoque dans la boucle l'affection connue sous le nom de muguet;

11° *L'aspergillus niger*.

Les seconde, troisième, quatrième et cinquième colonnes du tableau indiquent en centimètres cubes par litre, et pour chaque durée de contact, les doses minima d'acide sulfureux qui tuent d'une manière constante chaque organisme.

TABLEAU I

DOSES TOXIQUES (par litre).

ORGANISMES	15 minutes	6 heures	24 heures	5 jours
1. Levure de bière.	200cc	100cc	20cc	»
2. Levure de raisins.	100cc	20cc	20cc	10cc
3. Levure de raisins de Corinthe.	200cc	40cc	20cc	20cc
4. Levure de fraises (a).	200cc	20cc	10cc	10cc
5. Levure de fraises (b).	100cc	40cc	10cc	10cc
6. Levure de fraises (c).	200cc	40cc	40cc	20cc
7. Mycoleuvre.	200cc	100cc	40cc	20cc
8. Mycoderma vini (a).	200cc	100cc	100cc	40cc
9. Mycoderma vini (b)	200cc	100cc	20cc	20cc
10. Muguet.	500cc	100cc	20cc	20cc
11. Aspergillus niger.	50cc	20cc	10cc	»

La lecture de ce tableau montre combien peut varier la résistance à l'action de l'acide sulfureux chez des organismes morphologiquement et physiologiquement très voisins; il n'est

pas sans intérêt de noter au passage que l'échelle de vulnérabilité se modifie suivant la durée du contact avec l'agent toxique. Ainsi, le muguet, qui est le plus résistant de tous les champignons désignés dans le tableau à une action rapide de l'acide sulfureux, résiste beaucoup moins que le *mycoderma vini* (a) à une action prolongée pendant vingt-quatre heures.

Toutefois, en dépit des différences individuelles, il est quelques conclusions générales qui peuvent être dégagées de l'ensemble des expériences :

1^o Une solution renfermant un cinquième de son volume d'acide sulfureux a détruit tous les champignons abandonnés à son contact pendant un quart d'heure, sauf le muguet pour la destruction duquel la dose d'acide sulfureux a dû être portée à 500^{cc} par litre;

2^o Si le contact est prolongé dix heures, aucun champignon ne résiste à une solution renfermant un dixième de son volume, soit 100^{cc} d'acide sulfureux par litre;

3^o Si l'action s'exerce pendant vingt-quatre heures, la dose toxique s'abaisse à un vingt-cinquième du volume, soit 40^{cc} par litre, sauf pour une des variétés de *mycoderma vini*, qui, *dans une expérience sur trois*, exige pour sa destruction 100^{cc} par litre;

4^o Enfin, si l'expérience est prolongée plusieurs jours, 20^{cc} par litre, soit un cinquantième du volume, suffisent pour détruire tous les champignons, sauf ce même *mycoderma vini*.

Ces doses témoignent d'une action énergique de l'acide sulfureux : il suffit de les exprimer en poids pour constater qu'elles sont comparables et parfois inférieures aux doses actives des plus puissants antiseptiques. Ce sont : 1^{gr},35 par litre (1/750) si la durée n'est que de quinze minutes; 0^{gr},27 par litre (1/3700) si la durée en est d'une heure; 0^{gr},108 par litre (1/9000) s'il est prolongé vingt-quatre heures, et enfin 0^{gr},054 par litre (1/18000) si l'action toxique s'exerce pendant plusieurs jours.

Encore sont-ce là les doses dont l'action toxique sur les champignons inférieurs semble générale. Mais il est des organismes, comme l'*aspergillus niger* et certaines levures, qui ne résistent pas vingt-quatre heures à un trente-six millième d'acide sulfureux.

Les nombres ci-dessus n'ont, je le répète, quelque soigneusement qu'ils aient été déterminés, qu'une valeur relative. Ils sont vrais pour certaines conditions expérimentales, mais il suffirait de modifier ces conditions pour modifier les nombres eux-mêmes et faire ainsi ressortir leur caractère contingent.

J'ai cherché par exemple quelle est la dose d'acide sulfureux qu'il faut ajouter à un moût, pour qu'une levure y ensemencée ne put s'y développer. J'ai constaté que 25^{cc} de gaz par litre de moût étaient nécessaires pour obtenir ce résultat avec la levure de raisins et la levure de fraises (*c*), ensemencées respectivement dans des moûts de raisins et de fraises. Si, dans les mêmes milieux, ensemencés avec les mêmes levures, on veut arrêter la fermentation en pleine activité, la quantité nécessaire d'acide sulfureux est la même, s'il s'agit de moût de raisins, mais doit être doublée pour interrompre une fermentation de moût de fraises.

Ces nombres sont du même ordre de grandeur que ceux du tableau I, et concordent assez bien avec eux. Toute concordance entre les résultats disparaîtra, au contraire, si l'on fait varier la température ou la réaction chimique du milieu au sein duquel agit l'acide sulfureux.

En ce qui concerne l'influence de la température, j'ai constaté fort nettement qu'à 35° l'action toxique de l'acide sulfureux sur une levure de raisins et le champignon du muguet est plus marquée qu'à 20°; c'est un résultat analogue à celui que MM. Chauveau et Arloing ont constaté à propos du phénol¹.

De même pour la réaction: la présence de quantités même très faibles d'un acide minéral exalte constamment et d'une manière remarquable la toxicité de l'acide sulfureux. On peut en juger par le tableau suivant, dont la disposition est la même que celle du tableau I :

TABLEAU II

ORGANISMES	DOSES TOXIQUES (PAR LITRE)		
	15 minutes	6 heures	24 heures
Levure de raisins	sans SO ⁴ H ²	100 ^{cc}	20 ^{cc}
	0 ^{gr} 25 SO ⁴ H ² p ^r lit.	40 ^{cc}	4 ^{cc}
Muguet	sans SO ⁴ H ²	500 ^{cc}	400 ^{cc}
	0 ^{gr} 49 SO ⁴ H ² p ^r lit.	500 ^{cc}	10 ^{cc}

1. *Bull. de l'Ac. de Médecine* 1884, p. 604.

Il est à peine nécessaire d'ajouter que l'on s'est assuré, par des expériences préalables, que les quantités d'acide sulfurique employées étaient incapables par elles-mêmes, non seulement de tuer l'organisme, mais même d'entraver son développement. Elles ont suffi pourtant pour décupler l'action毒ique. Dans ces conditions nouvelles un quatre-vingt-dix millième d'acide sulfureux a pu détruire la levure, et un cent quatre-vingt millième le champignon du muguet.

Ces résultats sont intéressants à un double point de vue : ils montrent entre quelles limites éloignées peut varier la valeur toxicité d'une même substance à l'égard des organismes inférieurs, quand on modifie les conditions de son action, et, d'autre part, l'exaltation remarquable de la toxicité de l'acide sulfuréux par de petites quantités d'un acide minéral pourra vraisemblablement être mise à profit dans quelques-uns des nombreux cas où cette toxicité est utilisée.

LES MALADIES DU BÉTAIL EN AUSTRALIE

PAR MM.

A. BRUCE,
Inspecteur en chef du bétail,
à Sydney.

ET

A. LOIR,
Directeur de l'Institut Pasteur
australien.

Le continent de l'Australie, dont la prise de possession par l'Angleterre remonte seulement à cent ans, est divisé en cinq colonies. Avec une superficie presque égale à celle de l'Europe, il ne possède que quatre millions d'habitants et doit être considéré comme une région essentiellement pastorale.

Les animaux indigènes sont presque tous des marsupiaux. Les nombreux animaux de ferme de la colonie proviennent tous d'importations faites dans le cours de ce siècle; avec ces animaux ont été introduites un assez grand nombre de maladies, auxquelles ils sont sujets dans les autres pays. L'Australie étant une île éloignée de toute autre contrée, il est assez facile d'y suivre l'introduction et le développement des maladies du bétail, et aussi de voir à quelles circonstances particulières la contrée doit de ne pas connaître certaines maladies, telles que la rage, par exemple, grâce aux mesures prohibitives prises par le gouvernement, et aux dispositions sévères imposées par les règlements de la quarantaine.

Nous pensons qu'il sera intéressant de prendre quelques-unes de ces maladies et de les suivre dans leur histoire australienne.

ANTHRAX. En 1847, soixante ans après la première importation du bétail, l'anthrax fit son apparition en Australie, dans une ferme appartenant à M. Cordeaux, à Leppington, localité du

1. La statistique pour 1889 comptait : Chevaux, 1,804,137. Bovidés, 9,278,840. Moutons, 96,580,639. Porcs, 1,410,203.

comté de Cumberland, il fut appelé, à cause de cela, « *Cumberland disease* »; depuis cette époque, il est aisément de suivre les progrès et l'envahissement du mal, qui gagne peu à peu chaque année.

En 1851, une commission royale fut nommée à l'effet de découvrir la nature de cette maladie, et il semble qu'elle l'ait identifiée avec le charbon.

Mais ce n'est en réalité qu'en 1888 que la preuve absolue de l'identité du *Cumberland disease* et du sang de rate fut donnée par la mission Pasteur, composée de MM. Germont, Hinds et Loir.

Peu de temps après cette identification, et à la requête du gouvernement de la Nouvelle-Galles du Sud, des expériences semblables à celles de Pouilly le Fort, furent faites avec le même succès et prouvèrent d'une manière éclatante l'efficacité du vaccin Pasteur contre le *Cumberland disease*. Depuis août 1890, il a été établi à Rodd'Island, près de Sydney, un laboratoire où les propriétaires australiens peuvent se procurer le vaccin Pasteur nécessaire à l'inoculation de leurs bœufs et moutons.

Il est difficile, quant à présent, de donner un chiffre exact de la mortalité annuelle du bétail causée par cette maladie, parce qu'un grand nombre de squatters (propriétaires fermiers) évitent autant que possible de laisser savoir que leurs troupeaux sont atteints. Le chiffre approximatif, donné par les rapports officiels des inspecteurs du gouvernement, est par an, pour la colonie seule de la N.-G. du Sud, de *deux cent mille moutons* sur un total de 56,000,000 de têtes. La mortalité est d'environ 15 0/0 dans les régions atteintes par l'épidémie.

Pendant les quatre derniers mois de 1890, 150,000 moutons, environ, ont été inoculés par le vaccin Pasteur; ils sont dans les propriétés infestées: le succès final de ces vaccinations ne sera définitivement prouvé que vers la fin d'avril 1891. Jusqu'à présent, la mortalité à la suite de la vaccination a été insignifiante, et les moutons paraissent résister très bien à la maladie qui est très meurtrière cette année.

PÉRIPNEUMONIE. — La péripneumonie a fait sa première apparition en Australie, en 1858. Elle a été introduite dans la station de M. Boddle, du district de Plenty (colonie de Victo-

ria), par une vache que cet éleveur avait achetée en Angleterre.

Cette vache avait eu, dit-on, une attaque de péripneumonie quelque temps avant son achat; elle avait été traitée, puis guérie; mais il paraît certain à présent que la guérison n'avait été qu'incomplète, car peu de temps après son débarquement à Melbourne, elle eût une rechute et mourut. Elle contamina les bestiaux de ce propriétaire, qui, à leur tour, passèrent la maladie aux troupeaux des environs.

Les transports des marchandises, à cette époque, ne se faisaient qu'au moyen d'attelages de bœufs, qui portèrent ainsi, dans toute la province de Victoria, la contagion et l'épidémie. Dès lors, la maladie, ainsi répandue, gagna vite les colonies voisines; elle a maintenant atteint les extrémités nord de la colonie du Queensland, colonie qui possède le plus de bêtes à cornes, 4,654,932 bovidés.

Les éleveurs du Queensland, obligés, pour trouver un écoulement à leurs produits, de vendre leurs bestiaux sur les marchés de la N.-G. du Sud et de Victoria, ne peuvent les diriger par le chemin de fer; ils sont obligés de suivre les routes tracées spécialement dans ce but. La distance à parcourir varie de 500 milles environ à 1,500 milles; les troupeaux fournissent une course moyenne de 8 à 10 milles par jour; or pendant ces voyages qui durent de 2 à 6 mois, le bétail traverse les contrées dans lesquelles la péripneumonie fait le plus de ravages. En admettant que les animaux fussent indemnes en partant, ils gagnent la maladie et la communiquent aux jeunes animaux qu'ils rencontrent sur leur route; il n'est pas rare que, sur une expédition de 1,500 à 2,000 bœufs, on n'ait à constater, à leur arrivée sur le marché, une mortalité de 25 à 35 0/0. La perte annuelle causée par cette infection, est d'environ 16,000.000 de francs.

L'inoculation de Willems contre la péripneumonie a été introduite en Australie, vers 1862, et depuis cette époque elle a été employée dans toutes les colonies avec un réel succès. Mais la grande difficulté était de pouvoir se procurer du virus pour le bétail, avant de le mettre en route.

Pour supprimer cet obstacle, les membres de la mission Pasteur, MM. Germont et Loir, après leurs démonstrations heureuses de l'efficacité de la vaccination contre l'anthrax dans

la Nouvelle-Galles du Sud, furent invités, par le gouvernement de Queensland, à faire, dans cette colonie, des expériences dans le but de trouver un procédé pour la conservation du virus; ils firent l'épreuve du procédé que M. Pasteur avait indiqué en 1882, et qui permet d'avoir facilement à sa disposition une grande quantité d'un virus frais et pur.

D'après le système de Willems, une vache, inoculée à la queue avec le virus du poumon d'un animal mort de la péripneumonie, éprouve une légère réaction. Si l'opération est bien faite avec du virus pur, la queue n'est pas endommagée, et la bête est à l'abri de la maladie.

Mais si l'inoculation est faite dans ce que Bouley appelle une *partie défendue*, c'est-à-dire dans un endroit autre que la queue, derrière l'épaule, par exemple, il se produit un gros œdème, contenant une grande quantité d'un virus pur que M. Pasteur a montré être d'un effet aussi puissant que celui que l'on retire du poumon. Ainsi donc on peut toujours avoir le virus nécessaire à sa disposition, en inoculant un jeune veau dans une de ces régions défendues, et en recueillant la sérosité de l'œdème.

Ce procédé n'avait jamais été mis en pratique auparavant, il répond absolument aux besoins des propriétaires australiens; et actuellement il fonctionne dans deux petites stations de Queensland; là dans chacune de ces stations, on entretient continuellement un veau sous l'action de l'inoculation dans une partie défendue; généralement, chaque quinzaine, un veau meurt, portant un gros œdème, avec la sérosité duquel on remplit des petits tubes stérilisés. Lorsqu'un squatter désire envoyer son bétail sur les marchés du Sud, il fait prendre à la station la plus voisine un de ces tubes qu'il paie 26 francs, il inocule aussitôt un veau derrière l'épaule; au bout d'environ trois semaines, il se forme un gros œdème renfermant une grande quantité de virus avec lequel on inocule à la queue les animaux qu'on veut faire voyager, et qui sont ainsi protégés contre les atteintes de la péripneumonie. Ces inoculations se font en grand et sont maintenant dans la pratique courante; tous les squatters en reconnaissent l'efficacité.

Il y a quelque temps, environ 2,000 vaches furent inoculées avec le virus d'un veau, qui était le cinquième d'une série entre-

tenue dans une des petites stations. Au moment du départ de ce troupeau arrivaient 19 nouvelles vaches, non vaccinées; les deux groupes partirent ensemble. Après 2,000 kilomètres, ces animaux arrivèrent à destination; les 2,000 bêtes vaccinées étaient en bonne condition, tandis que sur les 19 non inoculées, 8 étaient mortes de la péripneumonie.

Le gouvernement de Queensland, dans le but de perfectionner encore la conservation du virus, vient de charger officiellement M. Loir de procéder à de nouvelles recherches, auxquelles il se livre dans son laboratoire de Rodd'Island, près de Sydney.

HYDROPHOBIE. — La rage est inconnue en Australie. Il est imposé une quarantaine de six mois pour les chiens qui, d'ailleurs, ne peuvent venir que d'Angleterre. Comme la traversée d'Angleterre en Australie est au minimum de trente jours, on n'importe que des chiens de prix. Ces animaux, naturellement surveillés de près avant d'entreprendre ce grand voyage, courrent peu le risque d'être mordus avant le départ, et s'ils l'avaient été, il y a de grandes probabilités pour qu'ils meurent, soit pendant le voyage, soit pendant la quarantaine. Toutes ces raisons expliquent comment on n'a en effet constaté en Australie aucun cas de rage.

GALE DU MOUTON. — Le rapport, pour l'année 1866, de M. le chef inspecteur du bétail Bruce, commence ainsi : « J'ai l'honneur de vous annoncer que les moutons de cette colonie sont complètement exempts de la gale. Comme ce résultat vient d'être heureusement atteint, il peut être intéressant et instructif de faire une courte histoire de l'origine et de l'extension de la maladie et de passer en revue les moyens employés par les propriétaires pour la combattre, puis d'indiquer les procédés que l'on suit maintenant pour protéger ces animaux contre une nouvelle invasion. »

L'origine de la maladie a été très clairement démontrée. L'infection des moutons des districts de Hamoi et de Boyau, dans lesquels on a découvert la gale, vient, sans contredit, de quelques moutons gras amenés de Sydney et de Maitland, au commencement de 1862. Ces moutons de boucherie ont été infectés par des moutons importés d'Europe pour la reproduc-

tion et débarqués étant en puissance de maladie. Vers 1864, on a relevé plusieurs cas pareils.

Pendant l'année précédente, 350,000 moutons avaient été malades. Près de 142,491 ont été traités et guéris, avant que la loi de 1863 ait été appliquée. Depuis cette loi, qui oblige les propriétaires à traiter les moutons sous le contrôle de l'Etat, 206,809 moutons, presque tous infectés, ont été guéris.

Un grand nombre de remèdes ont été essayés, dont le meilleur est, sans contredit, un bain de feuilles de tabac et de fleur de soufre. Depuis 1866, la maladie n'a pas reparu.

RÈGLEMENT DES QUARANTAINES

Le propriétaire qui veut importer du bétail en Australie doit prévenir le gouvernement de son intention.

L'introduction de tout bétail atteint d'une maladie quelconque est prohibée. Aucun animal ne peut être débarqué sans l'autorisation écrite d'un inspecteur du bétail.

L'introduction des bovidés et ovidés est défendue, à moins qu'ils ne viennent de l'Angleterre ou de l'Irlande, ou n'y aient séjourné quatorze jours avant l'embarquement.

Les porcs ne peuvent être introduits que s'ils viennent de l'Angleterre ou de l'Irlande.

Les chèvres et les daims peuvent être importés des pays autres que l'Angleterre et l'Irlande, mais seulement pour les jardins zoologiques, et dans ce cas ils doivent subir la quarantaine.

Le propriétaire qui importe un animal doit en donner avis à l'inspecteur en chef du bétail, au moins vingt-huit jours avant le débarquement.

Au moment de l'embarquement pour l'Australie, les animaux doivent être accompagnés d'une déclaration du propriétaire constatant le bon état de santé, et d'un certificat d'un médecin vétérinaire.

Tout le bétail pour l'usage du bord doit être examiné avant le départ, aux frais de l'armateur, par un médecin vétérinaire, qui délivrera, pour ledit bétail, un certificat au capitaine du bateau. La personne chargée du bétail à bord, doit faire un rapport

sur la santé de tous les animaux pendant le voyage, rapport qui sera certifié par le capitaine.

Les peaux des animaux abattus ou morts pendant le voyage ne peuvent être débarquées.

Les chiens et tout le bétail doivent être mis en quarantaine à bord, et la personne chargée de leur donner des soins est seule autorisée à les toucher.

En arrivant, le capitaine signe une déclaration établissant l'état de santé du bétail qu'il a à son bord. Ce bétail est examiné par un inspecteur et un médecin-vétérinaire. Si on trouve, à l'inspection, que le bétail est contaminé, il doit être détruit suivant les ordres du ministre compétent. Si les animaux ne sont pas contaminés, les chevaux de toutes contrées sont débarqués. Les autres animaux sont envoyés en quarantaine. Le bétail doit être conduit, par mer, à la quarantaine, il est gardé aux frais et aux risques des propriétaires.

La durée de la quarantaine est de :

Chameaux	90	jours
Bovidés.	60	—
Ovidés	90	—
Chèvres, daims, etc.	60	—
Chiens	6	mois

Les animaux ne peuvent quitter la quarantaine sans un certificat d'un inspecteur et d'un vétérinaire.

REVUES ET ANALYSES

LA TUBERCULINE

REVUE CRITIQUE

Le temps n'est pas encore venu de formuler un jugement définitif sur la méthode de guérison de la tuberculose inventée par M. Koch. Nous tenons pourtant à donner aux lecteurs des *Annales*, habitués à être tenus au courant de tout ce qui se passe d'important dans le domaine de la microbie, un aperçu du grand mouvement scientifique qui a été provoqué par la découverte de la *tuberculine*. Il n'y en a certainement jamais eu qui se soit traduit, en aussi peu de temps, par une pareille somme d'efforts et de travaux. Aussi, vu l'impossibilité de passer en revue tous les mémoires publiés sur la matière, nous nous bornerons aux plus importants d'entre eux.

C'est à la séance d'inauguration du Congrès international de médecine, ouvert à Berlin le 4 août 1890, que M. Koch¹ fit connaître brièvement sa découverte (alors encore incomplète) de substances capables de donner aux cobayes sains l'immunité contre la tuberculose, et d'arrêter complètement, chez ces mêmes animaux, l'évolution d'une tuberculose générale très avancée.

On comprendra facilement l'effet produit par cette communication si on songe que jusque-là tous les travaux si variés dirigés vers la guérison de la tuberculose n'avaient encore rencontré que des échecs. Pour n'en citer que quelques-uns, MM. Arloing et Charrin avaient constaté qu'une première inoculation de la tuberculose ne conférait aucune immunité contre une inoculation ultérieure, et dans un travail fait dans le laboratoire même de M. Koch, M. Cornet avait vainement employé les procédés les plus variés pour guérir des cobayes de la tuberculose.

Ni dans sa communication au Congrès de Berlin, ni dans une

1. *Ueber bacteriologische Forschung*. Discours, Berlin, 1890.

seconde note¹ sur le traitement de la tuberculose, M. Koch ne donnait la composition de son remède, et c'est seulement dans un dernier mémoire² qu'il a brièvement indiqué la provenance et le mode de préparation de la tuberculine. Cette substance, tantôt désignée simplement comme « remède », tantôt comme « lymphé », est un extrait glycériné de cultures pures de la tuberculose. On y trouve à côté de sels minéraux et de matières extractives, une substance active soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool, et traversant facilement les membranes dialysantes. Comme elle peut supporter l'ébullition, elle ne semble point appartenir au groupe des *toxalbumines*, mais être un dérivé des substances albuminoïdes.

Déjà avant la révélation par M. Koch de son secret, on s'était douté, de différents côtés, que le remède antituberculeux provenait de cultures du bacille de la tuberculose³, et on s'était mis au travail pour préparer des tuberculines plus ou moins analogues à celles de Koch. Dès la première goutte de lymphé dont nous pûmes disposer au laboratoire, nous constatâmes, M. Roux et moi, qu'elle présentait cette odeur particulière propre aux cultures des bacilles tuberculeux (aviaires et humains) sur des milieux glycérinés. De l'existence de cet arôme et de la présence de glycérine dans la lymphé, il n'était pas difficile de conclure que ce liquide contenait les produits de cultures tuberculeuses dans des milieux glycérinés.

MM. Hueppe et Scholl⁴ ont de leur côté préparé, par l'évaporation de cultures du bacille tuberculeux sur des milieux glycérinés renfermant de 8 à 10 0/0 de peptone, une lymphé qui, inoculée à des cobayes tuberculeux, a provoqué la guérison rapide de processus tuberculeux locaux. Contrairement à M. Buchner, qui admet que la tuberculine est une espèce de protéine extraite du corps même des bacilles, MM. Hueppe et Scholl affirment que la substance active de la lymphé de M. Koch est un produit d'échange vital des bacilles vivant dans un bouillon glycériné. La glycérine introduite dans le liquide de culture suffit à assurer la préparation d'une tuberculine active par voie de simple évaporation, et sans qu'il soit nécessaire de faire un extrait glycériné. Dans nos expériences, nous avons constaté, M. Roux et moi, et conformément à l'opinion de MM. Hueppe et Scholl, que la partie liquide des cultures du bacille de la tuberculose provoque en général, sur les cobayes tuberculeux, une réaction fébrile plus intense que l'extrait glycériné des corps des bacilles séparés de leur milieu de culture.

1. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1890, n° 46 a., p. 1029.

2. *Ibid.*, 1891, n° 3, p. 101.

3. Voir *Bulletin médical*, 1890; *Munch. med. Wochenschr.*, 1890, n° 28.

4. *Berliner Klin. Woch.*, 1891, nos 4 et 8.

M. Crookshank¹ avait aussi, avant la dernière publication de M. Koch, préparé des cultures du bacille tuberculeux dans du bouillon glycériné, et obtenu, par la filtration de ces cultures, une substance toxique très active. M. Bujwid² avait obtenu, de son côté, un liquide analogue à la lymphe de M. Koch, en traitant par l'eau des cultures sur gélose, filtrant sur des filtres de porcelaine, et évaporant le liquide filtré dans le vide, ou bien encore en évaporant à un certain degré de simples cultures du bacille tuberculeux dans du bouillon. Le liquide de M. Bujwid provoqua une élévation de température chez des cobayes sains et un lapin tuberculeux, un collapsus chez un cobaye tuberculeux. Injecté à la dose de 0,01 gr. dans un cas de lupus de la face, il provoqua une hyperthermie à 39°, des frissons, et une réaction locale qui aboutit à la formation d'escharas. Ce liquide de M. Bujwid, et aussi celui de MM. Hueppe et Scholl, quoique analogues à la lymphe de M. Koch, sont cependant, de l'aveu de leurs auteurs, moins actifs dans leur influence sur l'organisme.

II

Comme l'action de la tuberculine sur le cobaye constitue l'assise fondamentale des recherches que M. Koch a poursuivies pendant des années, il est bien regrettable que ce savant s'obstine à ne pas donner le détail des résultats auxquels il est arrivé. Ainsi il n'indique ni les doses de tuberculine nécessaires pour donner l'immunité ou arrêter l'évolution de la maladie chez les cobayes, ni le temps qu'il faut pour obtenir ces effets, ni les particularités relevées chez les animaux vaccinés et « guéris », et sur les bacilles dans les cas de guérison. Comme donnée positive sur l'action de la tuberculine sur le cobaye tuberculeux, nous ne trouvons dans les mémoires de M. Koch que ceci, c'est que les injections produisent une amélioration notable dans l'état général : « La plaie d'inoculation, ulcérée, se rapetisse et finit par se cicatriser, ce qui n'arrive jamais lorsqu'on n'a pas recours à ce genre de médication ; les ganglions lymphatiques tuméfiés diminuent ; l'état de nutrition s'améliore et le processus morbide s'arrête, s'il n'était pas trop avancé préalablement, et si l'animal ne succombe pas à l'épuisement. » Par contre, M. Koch s'étend plus longuement sur l'hypothèse qu'il a faite pour expliquer l'action de sa lymphe, et qui consiste à admettre l'existence d'une substance nécrosante dans la tuberculine. Cette substance produirait, dès son introduction dans les tissus de l'ani-

1. *The Lancet*, 1891, n° 3319, p. 300.

2. *Wratch*, 1891, n° 5, p. 444.

mal tuberculeux, des nécroses considérables du protoplasma, de sorte que les bacilles ne seraient entourés que de matériaux très défavorables à leur développement. Ne pouvant se propager que dans les tissus vivants, les bacilles perdraient leur faculté de croissance dans le milieu nécrosé et « seraient troublés dans leur végétation à tel point que leur mort surviendrait beaucoup plus facilement que dans les circonstances habituelles ».

L'insuffisance de faits précis dans les publications de M. Koch explique jusqu'à un certain point l'échec de plusieurs observateurs qui ont voulu répéter ses expériences sur la vaccination des cobayes. Ainsi, M. Jaccoud¹ rapporte l'histoire d'un cobaye qui, après avoir reçu en un mois une quantité totale de 0,5 gr. de tuberculine, non seulement ne fut pas protégé contre une inoculation de tuberculose, mais succomba avant son témoin, non traité par ce remède. Dans les expériences de M. Dujardin-Baumetz², exécutées avec M. Dubief, les cobayes tuberculeux traités avec des doses de 0,01 gr. à 0,02 gr. de tuberculine, ainsi que les cobayes vaccinés avec des doses de 0,01 gr. (0,1 gr. en dix jours) de cette substance, et ensuite inoculés avec le virus tuberculeux, moururent tous en même temps que les témoins. Il est évident que dans tous ces cas les doses de tuberculine, employées par les expérimentateurs, étaient trop petites pour exercer leur action d'une façon manifeste.

MM. Abraham et Crookshank³ purent constater que les injections de tuberculine à la dose de 1 centigramme, provoquent une élévation notable de la température et une tuméfaction des ganglions chez les cobayes tuberculeux, tandis que chez les animaux sains elles ne sont suivies que d'une légère hyperthermie. Dans les expériences de M. Bardach⁴, exécutées à l'Institut Pasteur, la tuberculine fournie par M. Libbertz donna une élévation très manifeste de la température chez des cobayes tuberculeux qui reçurent 0,1 gr. du liquide; les mêmes doses produisirent une hyperthermie moins accusée chez des cobayes sains. Une dose de 0,2 gr. fut mortelle pour un cobaye inoculé dans le péritoine, 41 jours auparavant, avec une culture de tuberculose; et une dose de 0,5 gr., injectée en une seule fois, a tué un cobaye tuberculeux en 48 heures. Une dose de 1,69 gr. de tuberculine ne suffit point pour préserver un cobaye contre une inoculation ultérieure avec une culture de tuberculose; tandis que des injections de 1,49 gr. réparties en 13 doses, arrêtèrent la marche de la maladie chez un co-

1. *Bulletin de l'Acad. de médecine*, 1891, n° 6, p. 223.

2. *Ibid.*, p. 226 et *Comptes rendus de la Société de biologie*, 1891, n° 6, p. 443.

3. *The Lancet*, 1891, n° 3,519, p. 309.

4. Communication verbale. J'ai pu assister aux expériences de M. Bardach. V. aussi *Wratch*, 1891, p. 214.

baye, inoculé dans l'œil avec une culture tuberculeuse quatre semaines avant le commencement du traitement.

On voit, d'après ces données, que les cobayes doivent être traités par des doses beaucoup plus fortes que celles employées pour l'homme. Mais pour pousser plus loin ces expériences, il aurait fallu beaucoup plus de temps qu'il ne s'en est écoulé depuis la mise en vente des liquides; il faut donc espérer que M. Koch lui-même ne tardera pas à faire la publication circonstanciée des résultats obtenus par lui.

Pendant qu'il garde le silence sur ces détails, ce maître en bactériologie fournit des notions très importantes sur sa découverte de l'influence qu'exerce une infection tuberculeuse préexistante sur l'inoculation consécutive de cultures tuberculeuses. Contrairement à ses propres expériences, exposées dans son travail mémorable de 1884¹, ainsi qu'aux résultats obtenus par d'autres observateurs (MM. Falk, Arloing, Charrin), M. Koch a pu constater qu'une première atteinte de la tuberculose empêche une infection secondaire par le bacille tuberculeux. Ce dernier, inoculé en culture pure sous la peau d'un cobaye tuberculeux (infecté avec succès 4 à 6 semaines auparavant), provoque une nécrose étendue de la peau, et aboutit à une élimination de l'escarre produite, sans que le bacille réussisse à se généraliser dans le corps de l'animal. Chez le cobaye sain, le même mode d'infection produit une induration ulcérée à l'endroit de l'inoculation, et permet aux bacilles de s'étendre facilement en affectant d'abord les ganglions lymphatiques.

La découverte de cette action notable d'une infection préexistante sur l'introduction ultérieure des cultures tuberculeuses, action qui se manifeste sous forme d'un phénomène typique qu'on pourrait appeler « phénomène de Koch », a été à plusieurs reprises confirmée par M. E. Roux et moi, dans nos recherches sur la tuberculose. L'oreille est surtout un endroit très commode pour l'observation de ce phénomène. Tandis que, chez le cobaye sain, l'inoculation sous-cutanée avec une culture du bacille n'est suivie que d'une faible inflammation aboutissant à la formation d'un petit abcès, chez le cobaye tuberculeux elle provoque une réaction inflammatoire intense, avec formation d'escarre qui s'élimine plus tard.

Si, au lieu de cultures de bacilles, on inocule sous la peau des crachats tuberculeux, ou bien du pus ou des parcelles d'organes de cobayes morts de la tuberculose, on constate toujours une différence notable entre les animaux tuberculeux et les témoins, quoique dans ces cas il ne se forme point d'escarres éliminables. La différence

1. *Mittheilungen des K. Gesundheitsamtes* II, 1884, p. 72.

s'observe toujours dans le même sens, c'est-à-dire que l'infection ultérieure est toujours moins grave chez l'animal déjà tuberculeux. Sous ce rapport, l'analogie avec les phénomènes connus pour l'infection syphilitique ou morveuse est indéniable.

D'un autre côté l'injection des cultures de bacilles dans l'œil de cobayes rendus tuberculeux depuis quatre semaines et plus, est suivie d'un développement de tubercules caractéristiques, sans qu'il se produise une élimination de bacilles comme dans les inoculations sous-cutanées.

L'influence réfrénatrice de bacilles tuberculeux ou de leurs produits sur une infection tuberculeuse ultérieure ne pouvant être contestée, il serait intéressant de préciser l'état dans lequel se trouvent les bacilles influencés dans le corps des cobayes. Dans les cas où l'infection secondaire est suivie de formation d'escarre, une partie au moins des bacilles introduits peut être éliminée au dehors. Il reste pourtant encore des bacilles au-dessous de l'escarre, qui non seulement ont l'aspect normal, mais sont en état de provoquer la tuberculose chez des cobayes neufs. De plus, comme chez les cobayes tuberculeux les bacilles résident surtout dans les organes internes sans communication avec l'extérieur (rate, ganglions), ces microbes doivent être empêchés dans leur action à l'endroit même de leur séjour. M. Koch ne nous renseigne malheureusement point sur cette question, et ce n'est que par voie indirecte qu'on peut conclure de ses publications que les bacilles tuberculeux restent, dans l'organisme des cobayes traités par la tuberculine, à l'état vivant et même virulent. En effet, dans les recherches faites à l'Institut Pasteur, le pus intra-oculaire des cobayes traités avec succès par la tuberculine, s'est montré contenir des bacilles tuberculeux capables de donner la maladie aux cobayes neufs.

Il s'est donc produit chez les cobayes, à la suite du traitement, quelque changement remarquable qui leur permet de résister aux bacilles tuberculeux vivants et virulents, résidant dans l'intérieur de leur organisme. D'après M. Koch, ce changement consisterait en une nécrose des tissus tuberculeux, provoquée par les produits bacillaires, nécrose qui gènerait les bacilles dans leur développement et permettrait ainsi aux cobayes de résister à leur influence. Cette hypothèse serait confirmée si, dans les organes d'animaux qui présentent le phénomène de Koch ou qui ont été traités par la tuberculine, les bacilles étaient entourés par des masses abondantes de tissus nécrosés, et par cela empêchés de nuire aux tissus vivants. Les faits ne parlent nullement en faveur de l'hypothèse de M. Koch. En étudiant ce qui se passe sous la peau de cobayes, tuberculeux depuis plus de quatre semaines, auxquels on a inoculé un peu de culture de bacilles tuber-

ceux, on peut se convaincre facilement que, dès le début, les leucocytes qui affluent en nombre considérable vers les microbes, manifestent une grande activité en entourant des masses de bacilles et en les englobant en quantité¹. Afin de savoir si les phagocytes meurent bien-tôt après avoir avalé les bacilles, en fournissant ainsi des masses nécrosées, nous avons injecté, 24 heures après l'inoculation des cultures, dans le foyer inflammatoire, un peu de carmin en poudre. Quelques heures plus tard, nous fûmes en état de constater qu'un grand nombre de grains de carmin était déjà englobé par des leucocytes, dont beaucoup renfermaient en outre des bacilles tuberculeux. Donc la présence de ces derniers dans l'intérieur des phagocytes ne les empêche point de se mouvoir et d'ayaler le carmin. L'examen fait 46 heures après l'injection des cultures donna le même résultat. Même après la formation d'une escarre, il reste au-dessous d'elle beaucoup de leucocytes d'apparence normale qui renferment des bacilles.

Dans les organes de cobayes tuberculeux, traités avec la tuberculine, on constate également la présence de phagocytes nombreux qui se colorent d'une façon normale, ne présentent aucun signe de dégénérescence, et renferment des bacilles tuberculeux bien colorés. On trouva notamment beaucoup de tubercules tout jeunes avec des cellules épithélioïdes et des bacilles intracellulaires, cellules et bacilles se colorant tout à fait bien, dans les organes d'un cobaye tuberculeux qui avait reçu 0,8 c. c. de tuberculine en 7 injections, et dont la mort (survenue 41 jours après l'inoculation) fut sans doute accélérée par une dernière injection de 0,2 c. c. Les alvéoles pulmonaires renfermaient des amas de macrophages (cellules à poussière) d'aspect absolument normal, dans l'intérieur desquels se trouvaient, à côté de nombreux bacilles tuberculeux, beaucoup de grains de suie englobés. Dans tous ces jeunes tubercules il n'y avait pas trace de nécrose, malgré des injections répétées du liquide de Koch. La rate et le foie renfermaient aussi un grand nombre de tubercules, dont beaucoup très jeunes, avec des cellules épithéliales normales et des bacilles bien colorés.

La théorie de l'arrêt de la maladie par suite d'une nécrose étendue, provoquée par la tuberculine, devant être abandonnée, on serait plutôt tenté d'expliquer le phénomène par une suractivité de la réaction, qui se traduit par une augmentation de l'inflammation et de la résistance des phagocytes vis-à-vis des bacilles virulents.

1. La chimiotaxie des leucocytes vis-à-vis de la tuberculine a été supposée par M. Buchner, et constatée par voie directe, par MM. Hueppe et Scholl, chez les leucocytes des lapins pour la tuberculine débarrassée de sa glycérine, et par M. Bardach chez les leucocytes des cobayes et des lapins vis-à-vis de la tuberculine originale et diluée à 40%.

III

En ce qui concerne l'influence de la tuberculine sur d'autres espèces animales, les recherches publiées jusqu'à présent ne fournissent que des renseignements provisoires. Toutefois il est fort intéressant d'apprendre que les bovidés tuberculeux présentent une hyperthermie plus accusée que les animaux sains, ce qui permettrait de diagnostiquer la maladie à un stade peu avancé, et rendrait ainsi de grands services pratiques au point de vue de la prophylaxie.

A l'Institut vétérinaire de Dorpat¹, il a été constaté que la tuberculine, aux doses de 0,1, 0,2 et 0,3 c. c., produit chez les vaches tuberculeuses une réaction fébrile qui commence à peu près 12 heures après l'injection et dure pendant quatre heures. Chez les vaches saines, les mêmes doses ne produisirent aucun effet. Dans les expériences de M. Sticker, à Cologne², les vaches tuberculeuses réagirent déjà 8 à 9 heures après l'injection, et présentèrent une élévation de température jusqu'à 41°.

Des doses de 0,5 c. c. de tuberculine, employées à l'École vétérinaire de Berlin, par MM. Schutz et Rœkl³, produisirent une réaction marquée avec des températures jusqu'à 40,9 chez deux vaches tuberculeuses, mais restèrent sans effet chez une génisse saine.

Ces résultats constituent un progrès réel sous différents rapports, parce qu'un diagnostic précoce de la tuberculose des bovidés, fait le plus tôt possible, permettrait, comme le fait remarquer M. Lydtin⁴, de prendre des mesures sanitaires pour combattre la tuberculose chez ces animaux, d'utiliser la viande des animaux tuberculeux tués au début de la maladie, de perfectionner l'élevage en éliminant les animaux tuberculeux, et d'empêcher l'emploi du lait de vaches tuberculeuses.

Tandis que l'emploi de la tuberculine chez les bovidés présente surtout un grand intérêt au point de vue pratique, le traitement des singes par le même remède peut fournir des renseignements très intéressants au point de vue théorique. M. Hénocque⁵ communique l'histoire d'un macaque, chez lequel l'injection de tuberculine a produit d'abord une réaction caractéristique, et, employée à la dose totale de 6 milligrammes, aurait provoqué une tuberculose miliaire aiguë mortelle. A propos de cette communication, faite à la Société de

1. *Deutsche medicin. Wochenschrift*, 1891, n° 3, p. 136.

2. *Deutsche medic. Woch.*, 1891, n° 7, p. 284.

3. *Ibid.* n° 8, p. 320 et *Veröffentlich. des K. Gesundheitsamtes*, n° 5, 1891.

4. *Ibid.* n° 7, p. 284, et *Thierärztliche Mittheilungen*, 1891.

5. *Comptes rendus de la Société de biologie*, 1891, n° 7, p. 132.

biologie, M. Capitan¹ ajouta que, dans ses expériences, un singe tuberculeux ne manifesta aucune réaction après trois doses de 1 milligramme, tandis qu'un autre singe, supposé tuberculeux, ne réagit qu'à 4 milligrammes de tuberculine. Ces recherches, si intéressantes sur la tuberculose du singe, promettent de donner des résultats importants lorsqu'elles seront menées à bout.

IV

D'après M. Koch, l'homme sain ou atteint d'autres maladies que la tuberculose ne commence à réagir par une faible élévation de température et la courbature qu'à des doses de 0,01 c. c., tandis que les tuberculeux donnent une réaction assez prononcée déjà après une injection de 0,001 c. c. Cette différence de la réaction pourrait donc rendre de grands services pour le diagnostic.

Beaucoup d'observations dirigées vers ce point prouvent qu'en réalité, dans le plus grand nombre des cas, les tuberculeux réagissent beaucoup plus sûrement et fortement, et à des doses beaucoup moindres que les non tuberculeux. Cependant, il a été bien démontré aussi que cette règle, quoique générale, est loin d'être absolue. D'abord, il y a un nombre considérable de tuberculeux avérés, chez lesquels la tuberculine ne provoque point ou presque point de réaction. Ce sont surtout des cas de tuberculose pulmonaire avancée qui présentent cette exception. Parmi les exemples de phthisie moyenne ne donnant pas de réaction, le plus remarquable est celui qui a été rapporté par M. Senator². Il concerne une jeune dame chez laquelle 25 injections, dont 6 avec des doses de 0,02 c. c. ne provoquèrent aucune élévation de température; même, celle de 37°,5 ne fut jamais atteinte.

D'un autre côté des personnes bien portantes, ou atteintes de maladies autres que la tuberculose, réagissent quelquefois d'une façon assez intense à des doses bien au-dessous de celle de 0,01 c. c., indiquée par M. Koch comme limite inférieure. Dans les cas observés par M. Peiper³, parmi 19 personnes non tuberculeuses qui reçurent 0,002 c. c., quatre présentèrent de la fièvre et une réaction générale suffisamment accusée. Peut-être que, dans quelques-unes de ces exceptions, il s'agit d'une tuberculose latente qui ne put être révélée par aucun moyen diagnostique. Tel fut un cas de M. Schreiber⁴, où un malade, ne présen-

1. *Ibid.*, p. 433.

2. *Berliner Klin. Woch.*, 1891, no 7, p. 463.

3. *Deutsche med. Woch.*, 1891, no 4, p. 160.

4. *Ibid.*, no 8, p. 308.

tant aucun signe de tuberculose et chez lequel on supposa une neu-rasthénie, donna une réaction caractéristique après chaque injection ; après la septième il rejeta un peu de crachats, dans lesquels furent trouvés des bacilles tuberculeux. Contre la supposition que dans toutes les exceptions à la règle, il s'agit toujours d'une tuberculose latente, il y a les élévarions de température observées chez des cobayes notoirement sains après des injections de tuberculine, ainsi que des exemples de réaction locale et d'amélioration chez des malades non tuberculeux.

Le cas le plus intéressant de ce genre est celui qui a été rapporté par M. Billroth¹, et dans lequel 15 injections de tuberculine aménèrent le ramollissement d'une infiltration actinomycotique et la guérison de la maladie. M. Peiper (*l. c.*, p. 164) cite également un malade atteint de cystite consécutive à une gonorrhée, qui réagit promptement aux injections (jusqu'à 0,02^{cc}), et chez lequel la tuberculine occasionna une amélioration surprenante dans l'état local. Les lépreux manifestent aussi une réaction à la tuberculine, qui quelquefois amène chez eux des améliorations sensibles (Goldschmidt, Babes et Kilendero, etc.).

Malgré toutes ces exceptions, la règle générale persiste, de sorte qu'il est incontestable que, dans beaucoup d'occasions, la tuberculine peut rendre des services importants. Ainsi, les injections de ce liquide ont permis à M. Schreiber (*l. c.*, p. 308), de constater que des enfants issus de parents tuberculeux sont déjà atteints d'une tuberculose locale, notamment de ganglions, dans une période où leur état de santé ne laisse rien à désirer. D'un autre côté, le même observateur a établi que les nouveau-nés (dont il a examiné 40), sont extraordinairement insensibles à la tuberculine ; même des doses allant jusqu'à 0,05^{cc}, ne produisent chez eux aucune trace de réaction. Ce fait remarquable démontre que la tuberculose congénitale n'est pas la règle, et que ce n'est qu'à un certain âge que les enfants acquièrent la maladie.

V

En parlant de l'effet de son remède sur l'homme, M. Koch insiste pour que l'on commence, autant que possible, les recherches par le traitement des lupus. De très nombreux observateurs ont confirmé l'exactitude de la description de la réaction locale, faite par M. Koch dans les termes suivants : « Quelques heures après l'injection faite

1. *Wiener medicinische Presse*, 1891, no 9, p. 350.

sous la peau du dos, c'est-à-dire en un point bien éloigné des parties atteintes, les régions luepuses commencent — d'ordinaire même avant la manifestation du frisson — à gondrer et à rougir. Pendant la fièvre, le gonflement et la rougeur augmentent de plus en plus, et cet état arrive même au point que le tissu luepus présente une couleur brun-rouge et devient nécrotique. Si les foyers luepus sont plus limités, on voit que la région, fortement tuméfiée et d'un brun-rouge, est entourée d'une auréole blanchâtre d'une largeur de près de 1 centimètre, qui à son tour est entourée d'une zone rouge vif. Après l'abaissement de la température, la tuméfaction des régions luepuses diminue peu à peu, de telle sorte qu'elle peut avoir disparu au bout de 2 ou 3 jours. Les foyers luepus eux-mêmes sont couverts de croûtes formées d'un sérum s'écoulant en gouttes et se séchant à l'air; elles se transforment en escarres qui se détachent spontanément au bout de 2 à 3 semaines, et présentent, parfois déjà après une seule injection du liquide, une cicatrice lisse et rouge. En général, il faut cependant plusieurs injections pour obtenir ce résultat. Un point à noter, c'est que dans ce processus les altérations décrites sont exclusivement limitées aux régions atteintes de lupus; les plus petites nodosités, presque invisibles et cachées dans le tissu cicatriciel, prennent même part à ce processus et deviennent visibles par suite du gonflement et du changement de couleur, tandis que le tissu cicatriciel proprement dit, dans lequel les processus luepus se sont terminés, ne subit aucun changement. » (2^{me} Mémoire de M. Koch.) Ce tableau typique a pu être observé après des doses de 0,01 c. c., qu'on injectait aux lupiques adultes dans les premiers cas étudiés par M. Koch et un grand nombre d'autres observateurs.

Les exemples de lupus véritable ne présentant pas de réaction après les injections sont extrêmement rares. Je ne citerai qu'un cas des plus marqués. M. J. Israel¹ a observé un malade lupique, atteint en même temps d'une tuberculose pulmonaire, qui, malgré des doses allant jusqu'à 0,1 c. c. et malgré une quantité totale de 0,896 c. c. de tuberculine injectée, ne manifesta ni réaction locale, ni amélioration de l'affection luepuse. Néanmoins, l'examen microscopique d'un morceau excisé démontra la présence de tubercules et de cellules géantes typiques.

Même en se servant de doses beaucoup plus faibles, comme on le fait maintenant, afin d'éviter les accidents, on obtient une réaction assez marquée et quelquefois même très forte. Ainsi M. Blaschko² obtint une réaction locale très prononcée après avoir injecté des

1. *Berliner klinische Wochenschr.*, 1891, n° 4, p. 443.

2. *Ibid.*, n° 9, p. 235.

doses de 2 déci-milligrammes. M. Hallopeau¹ a constaté qu'un demi-millième de c. c. suffit souvent à éléver la température à plus de 40°; chez plusieurs sujets il a obtenu une réaction suffisante même avec un quart de millième.

Tous les observateurs sont unanimes à reconnaître l'amélioration produite par la tuberculine dans beaucoup de cas de lupus. Quelquefois même on a pu constater une guérison, qui s'est maintenue pendant un temps assez long. Ainsi M. Esmarch² a obtenu une guérison définitive dans un cas de lupus du nez, compliquée d'excroissances adénoïdes de la cavité nasopharyngienne, avec suppression totale de la respiration nasale. Une quantité totale de tuberculine de 0,86 c. c. a suffi pour faire complètement disparaître le lupus et pour rétablir la respiration par le nez. Tout récemment, M. Billroth³ a mentionné la disparition totale d'une infiltration lupique de la lèvre supérieure après un traitement de trois semaines par la tuberculine.

Les lupiques qui ont été le plus longtemps observés sont les trois malades de M. Levy⁴, dont le traitement fut commencé en octobre 1890, sous la direction de M. Koch même. Les doses employées étaient parmi les plus grandes qui aient été administrées (jusqu'à une quantité totale de 2,5 gr.), et la réaction était des plus prononcées. Dans ces conditions, l'amélioration a été très frappante et nette. Malheureusement, depuis la première communication du mois de novembre 1890, M. Levy n'a point donné de renseignements nouveaux sur le sort de ses malades, et ce n'est que par voie indirecte que nous apprenons⁵ que l'un d'eux a donné une récidive après la dixième injection.

Sous ce rapport on est mieux informé sur la marche du traitement des malades lupiques de M. Bergmann⁶, dont le traitement a été commencé au mois de novembre dernier, et chez lesquels par conséquent la période d'observation a été des plus longues. Parmi les premiers malades, l'attention fut surtout attirée sur un nommé Klingbeil, atteint de lupus exfoliatif et exulcerant du nez, des joues et de la lèvre supérieure, avec disparition de la cloison et des ailes du nez. Les injections de 0,01 c. c. de tuberculine furent suivies d'une réaction intense, et l'amélioration, après la quantité totale de 0,05 c. c., fut telle qu'E. M. Bergmann exprima « l'assurance certaine que même les dernières traces de la maladie, consistant en exfoliation et rougeur, disparaî-

1. *Semaine médicale*, 1891, n° 8, p. 59.

2. *Deutsche medic. Wochensch.*, 1891, nos 3 et 4, p. 103 et 172.

3. *Wiener medicin. Presse*, 1891, n° 9, p. 331.

4. *Deut. med. Woch.*, 1890, n° 47, p. 1056.

5. *Wiener medic. Presse*, 1890, n° 30, p. 1993.

6. *Deutsche medic. Woch.*, 1890, n° 87, p. 1073.

traiient prochainement ». Le traitement fut poursuivi¹ jusqu'au 8 janvier 1891, s'étendant ainsi à 53 jours; la quantité totale de la tuberculine s'éleva à 0,87 c. c. Mais, malgré la disparition des réactions et l'amélioration mentionnée, la réaction générale et locale réapparut, plus de deux mois après le commencement du traitement, à un tel degré qu'il se forma de nouvelles croûtes. Les mêmes phénomènes furent notés dans beaucoup d'autres cas de lupus, de sorte que la plupart des observateurs ne parlent plus de guérisons définitives, et mentionnent souvent la réapparition de tubercules lupiques sur les endroits qui paraissaient être guéris. Ainsi M. Hutchinson² a vu, malgré la réaction caractéristique et une amélioration incontestable, des résidus de tubercules persister sur les bords de la peau affectée, et constata une telle récidive dans un cas, considéré d'abord comme guéri, que l'amélioration était nulle.

M. Schwimmer³ à Budapest, résumant ses observations sur le traitement du lupus, affirme que malgré des améliorations notables, la guérison définitive ne put être obtenue, parce que les tubercules profonds, résidant dans le derme, restèrent intacts après le traitement.

Les dermatologues de l'hôpital de Saint-Louis, MM. Besnier et Hallopeau⁴, qui entreprirent le traitement sur plusieurs dizaines de malades, mais opérèrent avec des doses beaucoup moins que celles employées en Allemagne, remarquèrent que non seulement les tubercules anciens ne disparurent pas, mais qu'il se forma encore de nouveaux tubercules pendant le traitement. Malgré l'amélioration observée dans un certain nombre de cas, elle n'a été nulle part « assez éclatante pour être considérée comme une guérison, même temporaire ».

La diminution des doses, comparativement à celles employées au début par M. Koch et ses collaborateurs, s'explique par les complications et les accidents produits par la tuberculine. On observa dans beaucoup de cas des troubles du côté des reins (albuminurie, hématurie), du cœur (accélération et faiblesse) et d'autres organes. Dans le lupus, compliqué par d'autres affections tuberculeuses, on a même vu, dans des cas très rares il est vrai, la mort survenir à la suite des injections de tuberculine. Ainsi une jeune fille de 17 ans, atteinte d'un lupus exulcérant de la face, a succombé à la suite d'une seule injection de 0,002 c. c., et à l'autopsie, relatée par M. Jarisch⁵, on a

1. *Deutsche medic. Wochens.*, 1891, n° 6, p. 242.

2. *British medical Journal*, 31 janv.

3. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 1, p. 37.

4. *Semaine médicale*, 1891, n° 8, pp. 54-60.

5. *Wiener Klinische Wochensch.*, 1890, n° 50.

trouvé une tuberculose des ganglions et de l'intestin, de l'infiltration et de l'œdème pulmonaire, ainsi que de l'œdème du cerveau et de la moelle, des ecchymoses de la plèvre et du péricarde, etc. Plus démonstratif encore est un cas observé par M. de Burckhardt¹, concernant une fille de 23 ans, atteinte d'un lupus assez étendu du nez, du palais, de la paroi postérieure du pharynx ainsi que de la jambe droite. Après avoir réagi de la façon habituelle à deux injections de 0,003 et 0,008 c. c., cette malade succomba 22 heures après une troisième injection de 0,01 c. c. avec une néphrite interstitielle aiguë, sans lésions tuberculeuses autres que le lupus.

Après des avertissements de ce genre, les doses de tuberculine furent partout de beaucoup diminuées, ce qui supprima les accidents, mais diminua en même temps l'intensité de la réaction et le degré de l'amélioration.

Les recherches histologiques sur le lupus traité par la tuberculine démontrèrent avant tout la production d'une inflammation exsudative très forte, due incontestablement aux injections. Tous les observateurs de ces phénomènes, depuis M. Kromayer², qui donna la première description microscopique du tissu lupeux pendant la période de la réaction, jusqu'à M. Schimmelbusch³, qui a pu étudier très soigneusement 30 cas de tuberculose traités par la tuberculine, sont unanimes à déclarer qu'au lieu de la nécrose, supposée par M. Koch, le tissu tuberculeux ne subit qu'une inflammation très active, accompagnée d'une infiltration leucocytaire, ainsi que d'une imprégnation par un exsudat séreux et fibrineux. Dans la période aiguë de la réaction, l'épiderme devient vacuoleux à la suite d'une transsudation abondante; un nombre plus ou moins considérable de leucocytes traverse la couche épidermique, et il arrive souvent que cette dernière éclate pour faire passage à l'exsudat qui se solidifie en donnant les croûtes tant de fois décrites dans le processus du traitement du lupus.

Mais, malgré cette inflammation aiguë, les tubercules restent intacts, et si quelques-uns situés plus superficiellement sont éliminés, comme dans les cas de lupus exulcérez, un grand nombre d'autres, logés dans la profondeur du derme, résistent, sans présenter de signes de nécrose ou de dégénérescence. Voici comment M. Schimmelbusch résume ses recherches histologiques. « Ni au centre, ni à la périphérie des tubercules on n'a pu voir de nécrose en général ou de nécrose de coagulation en particulier, comme l'a supposé M. Koch au sujet de

1. *Deutsche medic. Woch.*, 1891, n° 3, p. 134.

2. *Ibid.*, 1890, p. 4438.

3. *Ibid.*, 1891, n° 6, p. 240. V. aussi Riel, *Wiener Klin. Wochenschr.*, 1890, n° 51, et Jacobi, *Centralbl. f. allg. Pathologie*, 1890, t. II, n° 2.

l'action de son remède. Les cellules épithélioïdes présentèrent leur aspect habituel, leur noyau était pauvre en chromatine comme d'habitude; mais le nucléole et les filaments nucléaires furent nettement accusés; par contre on ne fut en état de constater ni un processus karyolytique, comme on en voit au début de la nécrose, ni un morcellement du noyau. »

L'examen histologique, démontrant la persistance des tubercules malgré le traitement, prouve donc que ce dernier n'a point amené une guérison définitive. Dans le cas de Klingbeil, mentionné ci-dessus, l'examen histologique d'un nodule, extirpé par M. Schimmelbusch, a permis de prédir la rechute, qui fut constatée plus tard à la clinique de M. Bergmann.

Aux cas déjà décrits, nous pourrions en ajouter encore deux autres provenant du service de M. Quinquaud, à Saint-Louis. L'étude des pièces extirpées avant le traitement, dans la période de la réaction et six semaines après le début du traitement (injection de 0,01 c. c. en 4 doses), démontrèrent une infiltration de la peau par des cellules rondes, et la persistance des cellules épithélioïdes et géantes avec leur structure habituelle, sans aucune trace de nécrose ou dégénérescence. Dans un des deux cas (lupus fermé), nous trouvâmes dans les cellules tuberculeuses, après six semaines de traitement, quelques bacilles à contours nets, fortement colorés, et en général ne se distinguant en rien des bacilles tuberculeux normaux.

VI

Nous avons insisté plus longuement sur les résultats obtenus pour le lupus, parce que cette affection tuberculeuse se présente comme la plus favorable pour le traitement par la tuberculine, et pour l'étude des phénomènes réactionnels et histologiques. La facilité d'examiner la structure de tubercules extirpés sur le vivant, exclut les objections qui se soulèvent contre les résultats obtenus sur le cadavre pour les organes internes. Nous pouvons, par contre, être beaucoup plus brefs sur ce qui concerne la tuberculose chirurgicale, d'autant plus qu'ici les données sont en général moins précises et concordantes.

Comme le dit M. Mikuliez⁴ dans son rapport qui vient de paraître, « il est encore impossible pour le moment de porter un jugement définitif sur la valeur thérapeutique du remède de Koch dans la tuberculose chirurgicale. » A côté d'une amélioration manifeste qu'on observe dans un grand nombre de cas, dans d'autres l'état stationnaire

1. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 10, p. 373.

persiste, ou il survient même une aggravation plus ou moins marquée. Ainsi, M. Esmarch¹ a pu constater, d'un côté, un cas de guérison très prompte des fistules formées après l'extirpation des ganglions cervicaux et plusieurs cas d'amélioration notable, et d'un autre côté il a observé des cas récalcitrants qui ne manifestèrent aucune tendance vers la guérison après un traitement forcé par la tuberculine.

M. Mikulicz, de son côté, a obtenu la guérison dans un cas de tuberculose des os et des articulations; dans plusieurs autres il observa une amélioration notable, tandis que dans une troisième catégorie de cas comprenant la moitié de ses malades (14 sur 28), aucun changement ne put être constaté.

Des études microscopiques de cas de tuberculose chirurgicale furent faites par O. Israël², à qui l'on doit en général les premiers renseignements positifs sur le tableau histologique de l'effet de la tuberculine, et qui constata, dans le tissu de la paroi d'un abcès périarticulaire recouvert d'une couche nécrosée, des cellules géantes, des cellules appelées *Mastzellen*, et un assez grand nombre de leucocytes. Le contenu de cet abcès, puisé après 5 semaines de traitement, lorsque la tuberculine ne donna plus de réaction, et inoculé dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, provoqua la formation de tuberculose de l'iris. Cette expérience confirme donc l'assertion de M. Koch que son traitement laisse les bacilles tuberculeux à l'état vivant et virulent.

Dans une cicatrice cervicale, provenant d'une extirpation antérieure des ganglions et qui réagit à la tuberculine, M. O. Israël a pu également constater la présence de cellules géantes d'aspect normal, ainsi qu'une infiltration considérable par des leucocytes.

VII

Les affections tuberculeuses de la cavité buccale présentent un intérêt tout particulier dans la question qui nous préoccupe, parce que les phénomènes qui se passent dans les muqueuses sont les plus faciles à étudier. Dans plusieurs cas on a vu les ulcérations tuberculeuses, après avoir présenté une réaction intense à la tuberculine, se guérir promptement; d'autres fois on a vu, au cours du traitement, l'apparition de tubercules qui se résorbèrent après des injections répétées. Ainsi, chez un malade de M. O. Brieger³, la langue ne présentait avant le traitement qu'une surface irrégulière et mamelonnée, mais

1. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 4, pp. 167-172.

2. *Berliner Klin. Wochenschr.*, 1890, pp. 1127 et 1891, ch. 1, p. 8.

3. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 5, pp. 202-204.

se tuméfia après la première injection et se couvrit d'ulcères plats. A la suite de trois autres doses de tuberculine, les ulcères se détergèrent et guérirent très promptement, laissant des cicatrices. En renouvelant les injections après un intervalle assez long, la réaction ne se produisit point, de sorte que le malade put être considéré comme réellement guéri. Dans tous ses autres cas, M. O. Brieger ne put obtenir qu'une guérison partielle et des améliorations manifestes.

D'un autre côté on a observé des malades chez lesquels la tuberculose de la cavité buccale ne se manifesta que pendant le traitement, en accusant une marche progressive. M. A. Fränkel¹ montra à la Société médicale de Berlin un malade atteint de phtisie pulmonaire d'un degré moyen, chez lequel une affection tuberculeuse de la langue ne se manifesta que 18 jours après la première inoculation. Malgré la continuation du traitement, l'affection de la langue s'aggrava, et il se forma une ulcération profonde, contenant un grand nombre de bacilles tuberculeux. A peu près six semaines après le commencement des injections, il se forma, à une certaine distance de l'ulcère, des tubercules miliaires et submiliaires, dont le développement put être suivi de jour en jour. Cette observation prouve de la façon la plus nette que la tuberculose peut continuer son évolution pendant et malgré le traitement le plus prolongé.

Un cas, étudié par M. Schimmelbusch², confirme cette conclusion à l'aide d'un examen histologique. Il s'agit d'un malade atteint d'une tuberculose du palais, chez lequel le traitement prolongé pendant 47 jours, avec une quantité totale de 0,89 c. c. de tuberculine, fut suivi d'une aggravation de l'ulcération. L'étude microscopique d'une portion d'ulcère excisé démontre la présence de tubercules nombreux et intacts, contenant une grande quantité de cellules géantes et de bacilles tuberculeux, et ne présentant aucun signe de nécrose.

VIII

Il n'est point possible de donner pour le moment un aperçu tant soit peu complet et exact du nombre infini de recherches qui ont été faites sur le traitement de la tuberculose des voies respiratoires. Malgré toutes les divergences d'opinions, et le passage brusque d'un optimisme trop exalté à une négation trop absolue, on voit qu'à mesure

1. *Berliner Klin. Woch.*, 1891, n° 3, p. 79. Un cas analogue a été observé par M. Litten. *Ibid.*, 1890, p. 4171.

2. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 6, p. 243.

que l'expérience augmente, on est d'accord pour diminuer de beaucoup les doses injectées, et pour restreindre de plus en plus le nombre de cas indiqués pour le traitement. Sous le premier rapport nous devons citer MM. Gutmann et Ehrlich¹ qui font le traitement à l'hôpital Moabit sous la direction de M. Koch, et qui, dans beaucoup de cas, ne commencent les injections qu'avec 0,0001 c. c. pour atteindre au bout de 10 jours la dose de 0,001 c. c., avec laquelle on commençait autrefois le traitement de la phthisie pulmonaire. Malgré ces faibles doses, il suffit d'une quantité de 0,0001 à 0,0002 de tuberculine pour provoquer une réaction locale du larynx et quelquefois même d'autres organes tuberculeux, tels que les ganglions et autres.

Au début on appliquait le traitement à tous les tuberculeux poitrinaires sans grande distinction. A présent on le limite autant que possible. MM. Gutmann et Ehrlich excluent les malades qui manifestent une réaction fébrile prononcée après des doses de 0,0001 ou 0,0002 c. c. La phthisie avancée, l'hémophthisie, le diabète, les affections cardiaques sont autant de contre-indications. M. Lichtheim² refuse même le traitement aux malades atteints de phthisie pulmonaire depuis des années, chez lesquels le mal s'est arrêté et qui se sentent assez bien, malgré des lésions prononcées et la présence des bacilles dans leurs crachats. M. Lichtheim invoque comme raison le fait « que l'amélioration qui pourrait être provoquée par le traitement est trop insignisante vis-à-vis du risque que peuvent courir de semblables malades. — Car il n'y a pas de doute qu'ils risquent que leur état, satisfaisant pour le moment, ne s'aggrave d'une façon durable à la suite du traitement ».

Des améliorations plus ou moins considérables ont été constatées dans un grand nombre de cas et par la plupart des observateurs. Mais l'assertion de M. Koch³ que tous les malades traités au début de la phthisie guérissent dans une période de 4 à 6 semaines, et que par conséquent « la phthisie au début est sûrement guérie par le traitement », ne s'est réalisée que dans une faible mesure. A l'hôpital de Moabit, où le traitement se fait sous la direction de M. Koch lui-même, et où on a un grand choix de malades, on n'a pas encore obtenu de guérison de la phthisie pulmonaire. M. P. Gutmann⁴, qui a donné un rapport succinct, ne parle que d'améliorations plus ou moins notables, même dans les cas du début; sur 51 malades à cette période initiale, 41 ont présenté ces améliorations. Comme cas de guérison véritable, on cite toujours les deux malades mentionnées par M. Koch dans son dernier mémoire, e

1. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 10, p. 373.

2. *Ibid.*, 1891, n° 7, p. 276.

3. *Ibid.*, 1890, n° 46, a, p. 1032.

4. *Berliner Klin. Woch.*, 1891, n° 3, p. 83.

citées aussi par M. M. Gutmann et Ehrlich¹. Une d'elles, E. Thiel, âgée de 17 ans, a eu, depuis 1889, 9 fois des hémoptisies avec infiltration des deux sommets et des bacilles dans les crachats. Traitée depuis le 30 septembre avec la tuberculine, tous les symptômes disparurent et la malade reprit son air florissant. Une autre malade, B. Lichtenberg, âgée de 25 ans, poitrinaire depuis deux ans, avec une infiltration du sommet gauche, descendant jusqu'à la troisième côte, fut aussi complètement guérie après un traitement commencé le 1^{er} octobre. Ces cas importants n'ont pas été encore décrits avec des détails suffisants pour que l'on porte un jugement définitif sur leur signification. En dehors d'eux, il n'y a que peu de données sur une guérison durable de la phthisie à la suite du traitement par la tuberculine. On a plusieurs fois observé la disparition des bacilles dans les crachats, mais tantôt ils réapparaissaient de nouveau², tantôt il s'agissait de petits foyers qui évacuaient des bacilles à la suite des injections et se refermèrent.

Tout le monde accepte à présent que, dans la phthisie avancée, la tuberculine est contre-indiquée, comme pouvant occasionner une aggravation redoutable. Mais, tandis que les champions zélés de la nouvelle méthode affirment que dans les cas de phthisie, au début, il n'y a rien à craindre, d'autres citent des cas où la maladie, quoique peu avancée au début du traitement, s'aggrava brusquement à la suite des injections. Parmi les exemples de ce genre, je n'en mentionnerai que deux.

M. Naunyn³ cite un garçon de 18 ans, bien nourri, mais atteint d'un catarrhe initial du sommet. Après deux injections il se déclara une fièvre de plus en plus intense, et le malade mourut à la suite d'une tuberculose miliaire aiguë toute fraîche, qui fut constatée à l'autopsie.

Voici le second exemple. A la fin de novembre 1890 entra à l'hôpital israélite de Berlin un étudiant de 25 ans, robuste et fort, sans autres signes morbides qu'une faible matité du sommet gauche. Les crachats renfermaient de nombreux bacilles. Après neuf injections, pratiquées pendant trois semaines, le malade, qui se distinguait par son embonpoint, éprouva de la difficulté à respirer et présenta une accélération surprenante du pouls. Dès lors la fièvre s'établit, la maladie prit une marche aiguë, et le malade succomba à la suite d'une perforation de la plèvre et d'une tuberculose généralisée⁴.

Ce cas a été étudié au point de vue de l'anatomie pathologique par M. Virchow⁵ qui constata « une perforation rapide de la plèvre avec

1. *Berl. Klin. Woch.*, 1891, n° 7, p. 480.

2. P. ex. dans les cas de M. Openheim., *Berl. Klin. Woch.*, 1891, n° 3 p. 86.

3. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 9, p. 342.

4. *Berl. Klin. Woch.*, 1891, n° 3, p. 83.

5. *Ibid.*, 1891, n° 3, p. 82.

formation de pneumothorax par suite de l'application du remède ou au moins après celle-ci ». M. Virchow fit voir en outre un assez grand nombre d'autres cas où, malgré les injections de tuberculine, répétées même un grand nombre de fois, la tuberculose prit une marche aiguë et finit par amener la mort. Tout dernièrement¹ il autopsia un individu chez lequel une tuberculose submiliaire aiguë, répandue sur un grand nombre d'organes, enleva le malade un mois après le commencement du traitement. Le développement des tubercules put être suivi dans le larynx durant les derniers jours de la vie du malade.

Dans un autre cas², traité pendant plus de deux mois, l'autopsie révéla à côté « d'une affection très restreinte d'un sommet, qu'on peut considérer comme plus ancienne, toute une série d'altérations caséuses et ulcérées fraîches qui, évidemment, ont dû se produire pendant la période des injections ».

En dehors de la dissémination des tubercules, M. Virchow³ observa, à la suite des injections, des phénomènes inflammatoires très graves, entre autres une pneumonie ressemblant à la pneumonie catarrhale, et caractérisée par une infiltration trouble des alvéoles, l'aggravation des pleurésies qui accusèrent un caractère hémorragique, et la tendance des ulcérasions à s'aggraver et à perforer, comme cela a été plusieurs fois constaté pour les ulcérasions tuberculeuses des intestins.

En ce qui concerne les propriétés des tubercules soumis au traitement, M. Virchow⁴ insiste sur leur résistance et sur le manque de phénomènes de nécrose autres que ceux qu'on observe habituellement. Les bacilles mêmes ne subissent point de changements notables, restant vivants et virulents. Les tubercules ne se résorbent point et n'accusent aucune tendance à s'indurer et à s'encapsuler plus facilement que sans le traitement. Tout au contraire, il est probable que sous l'influence des injections, « des masses auparavant encapsulées peuvent être mobilisées, de sorte qu'un foyer qui paraissait inoffensif, devient un danger sérieux pour le malade. » D'après M. Virchow, ce ne sont pas les tubercules eux-mêmes, mais plutôt le tissu environnant qui

1. *Berliner Klin. Woch.*, no 9, p. 237.

2. *Ibid.*, no 8, p. 213.

3. *Ibid.*, no 2, p. 49-52.

4. M. Frantzel et plusieurs autres observateurs ont supposé d'abord un changement morphologique et considérable des bacilles, occasionné par la tuberculine. Des recherches ultérieures ont montré que ces changements ne présentent rien de spécifique, et s'opèrent aussi en dehors de toute action du remède.

D'un autre côté, M. Liebmann a avancé que, sous l'influence du traitement, les bacilles tuberculeux pénètrent dans le sang et peuvent y être retrouvés facilement. Les recherches de MM. Ewald, Gutmann et Ehrlich, Hlava, et autres ont réfuté l'assertion de M. Liebmann.

subit l'action la plus accusée, en s'inflammant à la suite des injections.

M. Kromayer¹ poursuit cette idée plus loin, en l'appliquant à une théorie de l'action thérapeutique de la tuberculine. Plus un tubercule est entouré de vaisseaux (comme dans le lupus), plus il est accessible à cette action, qui faciliterait la cicatrisation autour de lui. Voilà pourquoi les plus jeunes et les plus vieux tubercules sont les moins influencés par le remède, les premiers n'étant pas encore entourés de vaisseaux, les autres ayant déjà perdu leur entourage vasculaire.

M. Rindfleisch² qui a étudié le processus curatif des ulcéra-
tions intestinales dans un cas de tuberculose interne, traité pendant deux mois par le remède de M. Koch, attribue l'effet thérapeutique à une action assainissante du liquide, qui empêche les bacilles de nuire aux tissus granuleux, permettant par suite à ce dernier de suivre son évolution normale et de se transformer en tissu conjonctif.

Malgré une certaine divergence d'opinion, tous les auteurs qui ont fait une étude histologique sur le sujet, M. Rindfleisch aussi bien que M. Kromayer et tant d'autres observateurs mentionnés déjà dans cette revue, sont unanimes à déclarer que les phénomènes de nécrose ne sont nullement provoqués par la tuberculine d'une façon plus accusée que d'habitude. Tous au contraire, ils affirment la présence de cellules tuberculeuses (épithélioïdes et géantes) normales dans les tubercules, qui ont été pendant longtemps exposées à l'action du remède. M. Rindfleisch dit que dans les ulcères intestinaux guéris, ainsi que dans des cas de guérison de tuberculose pulmonaire ou péritonéale, les cellules géantes présentent un attribut très constant dans toutes ces néoplasies, dans les florissantes aussi bien que dans les anciennes, et paraissent facilement survivre aux bacilles qu'elles renfermaient au début³.

L'examen des phénomènes qui se passent sous l'influence de la tuberculine dans l'organisme humain, aussi bien que dans le corps des cobayes, dans la tuberculose de la peau et des muqueuses, aussi bien que dans celle des organes parenchymateux, démontre d'une façon évidente que la théorie de l'action nécrosante de la tuberculine ne peut être acceptée. Au lieu d'augmenter la nécrose des tissus tuberculeux, la tuberculine les met dans un état de suractivité qui facilite leur résistance vis-à-vis de l'agent morbide.

Il y a lieu de s'étonner que tous les observateurs cités, qui ont établi par une étude soignée les données que je viens de résumer, ne

1. *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 8, p. 303.

2. *Ibid.*, n° 6, p. 236.

3. *L. c.*, p. 238.

disent pas un seul mot au sujet des phagocytes, dont le rôle est cependant tout à fait frappant dans les phénomènes qui nous intéressent. Comme il a été démontré plus haut à propos des cobayes, les bacilles tuberculeux, pendant le phénomène de Koch, ainsi qu'après les injections du remède, restent emprisonnés dans l'intérieur des phagocytes, qui présentent tous leurs caractères normaux, et dont l'état vivant et actif est démontré par la facilité avec laquelle ils englobent le carmin. Il s'agit donc d'une suractivité des phagocytes, occasionnée par la tuberculine. Cette suractivité se traduit par une leucocytose générale, qui a été constatée par plusieurs observateurs, par des phénomènes considérables de chimiotaxie et par la résistance plus grande des cellules tuberculeuses — qui sont toutes des phagocytes — vis-à-vis de l'action nuisible des bacilles tuberculeux.

N'étant point capables de détruire ces microbes munis d'une enveloppe très dure, les phagocytes, sous l'influence du remède, parviennent à les gêner dans leur développement et à empêcher leur action destructive. Des phénomènes semblables s'observent également dans les cas de résistance naturelle de certains animaux, des rats par exemple, chez lesquels les bacilles restent vivants pendant un temps très long, mais, englobés dans les phagocytes, sont impuissants à nuire à l'organisme. Nous retrouvons un fait analogue avec les spores charbonneuses qui, pendant des mois, restent englobées dans les phagocytes d'animaux résistants, sans être tuées; mais aussitôt que l'animal sera brusquement placé dans des conditions défavorables, qui empêchent les phagocytes de continuer leur action inhibitoire, les bacilles germeront dans l'intérieur de ces cellules mêmes et envahiront l'organisme entier¹. Il est tout naturel que les phagocytes, incapables de tuer les bacilles tuberculeux qu'ils renferment, puissent devenir un des moyens de propagation de ces microbes dans l'organisme et, dans des conditions où la résistance des cellules serait amoindrie, engendrer une tuberculose disséminée.

Il va sans dire que l'action phagocytaire dirigée contre le bacille tuberculeux, si manifeste qu'elle soit, ne peut être considérée comme un phénomène tout à fait indépendant de toutes autres influences. Ainsi il est évident que l'inflammation active autour des phagocytes doit exercer une influence sur leur nutrition, et les stimuler peut-être d'une façon toute spéciale. Mais, malgré tout, on a le droit de supposer que l'organisme traité se défend, non point par une couche de tissu mortifié, qui tiendrait le bacille à distance, mais bien par

1. Les faits sur lesquels est basée cette conclusion au sujet des spores charbonneuses ont été constatés par M. Trapeznikoff, et vont être publiés dans ces *Annales*.

l'intermédiaire des phagocytes vivants, qui gèneraient le microbe. Dans la nature il existe des cas d'une résistance encore plus parfaite. Ainsi les cellules géantes et parfois épithélioïdes des spermophiles (animaux peu sensibles à la tuberculose) parviennent à tuer le bacille tuberculeux, d'ordinaire si tenace, et à le transformer en une masse dégénérée et inerte. Cette action qui a été, à un moindre degré il est vrai, observée aussi chez le lapin et même rarement chez le cobaye, est due sans doute à la production par les phagocytes d'une substance particulière très active qui tue et transforme le bacille¹. C'est vers ce but que doit tendre tout remède vraiment radical contre la tuberculose.

IX

1^o En résumant cet aperçu, nous devons insister d'abord sur l'importance de la découverte de l'action d'une affection tuberculeuse préexistante sur une introduction ultérieure du virus, et sur celle d'une substance capable d'entraver la marche de la tuberculose chez les cobayes et d'améliorer la tuberculose humaine. Quoique cette découverte, due à M. Koch, n'ait point été faite dans une direction absolument nouvelle, mais bien dans la voie des recherches de l'action vaccinante des produits microbiens, elle n'en servira pas moins à approfondir l'étude du fléau le plus terrible du genre humain, et à faciliter la lutte contre lui. Elle constitue le pas le plus considérable fait encore dans cette voie, et si elle n'a pas encore tenu tout ce qu'elle avait promis, on peut dire en revanche qu'elle promet beaucoup plus qu'elle n'a encore tenu;

2^o Le bacille n'est point directement atteint par la tuberculine, puisqu'il conserve sa virulence, mais il est empêché dans son action nuisible par une suractivité des tissus tuberculeux en général et des phagocytes en particulier;

4. V. mon mémoire sur l'action phagocytaire dans la tuberculose dans les *Archives de M. Virchow*, juillet 1888.

L'exemple de la tuberculose nous montre bien que M. Koch a eu tort de se prononcer aussi nettement contre le rôle des phagocytes, qu'il l'a fait dans son discours au Congrès de Berlin, le 4 août 1890. Il y a du reste un malentendu dans son assertion que, dans l'immunité, ce ne sont point les phagocytes, « mais très probablement les phénomènes chimiques qui jouent le rôle principal ». (*Ueber bacteriologische Forschung*, 1890, p. 10.) L'action phagocytaire, dans laquelle entrent les phénomènes de digestion intracellulaire, se compose, entre autres éléments, d'influences de substances chimiques produites dans les phagocytes. Ces derniers s'approchent des microbes par un effet de leur sensibilité, les englobent par suite de leur propriété amibeïde, et les tuent à l'aide de substances contenues dans leur intérieur. Le dilemme de M. Koch, — action phagocytaire ou action chimique, — ne serait donc point justifié.

3^o La valeur diagnostique de la tuberculine peut rendre des grands services à l'étude de l'évolution et de la propagation de la maladie, à la prophylaxie de la tuberculose humaine et à l'agriculture;

4^o La tuberculine, beaucoup plus dangereuse pour l'homme que pour le cobaye, ne peut donner l'immunité au premier. Injectée avec une grande prudence, elle produit des améliorations incontestables dans différentes affections tuberculeuses, notamment dans celles de la peau. Comme il n'est plus possible d'assurer qu'une guérison complète puisse se produire en 4 à 6 semaines, il est indispensable de prolonger les observations cliniques;

5^o Dans le but d'aboutir à une connaissance plus complète des choses, il est indispensable de continuer des recherches expérimentales variées sur plusieurs espèces animales. Il serait donc urgent que M. Koch publie des données plus détaillées sur ses expériences avec les cobayes, ainsi que sur la préparation de la tuberculine.

EL. METCHNIKOFF.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

TERLES BARTHÉLEMY, 59 ans, forgeron à Saint-Sixte (Lot-et-Garonne). Mordu le 1^{er} janvier 1891 par un chien reconnu enragé, d'après les renseignements recueillis et à l'autopsie, par M. Bresque, médecin vétérinaire à Valence-d'Agen.

Terles présente sur le bord interne de la 1^{re} et de la 2^e phalange du pouce gauche une morsure par éraflure, assez pénétrante, longue de 2 centimètres et demi, ayant bien saigné. Il s'est cautérisé lui-même au fer rouge 3 heures après l'accident.

Terles a subi le traitement à l'Institut Pasteur du 5 au 19 janvier. Il tombe malade le 1^{er} février et succombe à la rage le 8 février. (Renseignement donné par M. le Dr de Larroque, à Lamagistère, Tarn-et-Garonne.)

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — FÉVRIER 1891.

	A	B	C
Morsures à la tête { simples	» 2	» 3	» 3
et à la figure { multiples	» 2	» 3	» 1
Cautérisations efficaces	» »	» »	» »
— inefficaces	1	2	2
Pas de cautérisation	1	4	2
Morsures aux mains { simples	» 9	» 30	» 2
et multiples	» 7	» 26	» 4
Cautérisations efficaces	» »	» »	» »
— inefficaces	10	29	1
Pas de cautérisation	6	26	5
Morsures aux membres et au tronc { simples	» 3	» 4	» 1
et multiples	» 8	» 14	» 8
Cautérisations efficaces	» »	» »	» »
— inefficaces	8	9	2
Pas de cautérisation	2	8	6
Habits déchirés	8	15	7
Morsures à nu	3	3	2
Morsures multiples en divers points du corps	» »	» 5	» 1
Cautérisations efficaces	» »	» »	» »
— inefficaces	» »	» 1	» »
Pas de cautérisation	» »	» 4	» 1
Habits déchirés	» »	» 4	» »
Morsures à nu	» »	» 5	» 1
<hr/>			
Totaux. { Français et Algériens	28	70	11
Etrangers	1	15	9
<hr/>			
A	B	C	
<hr/>			
TOTAL GÉNÉRAL		134	

4. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 121 fois; chats, 14 fois; cheval, 1 fois; chacal 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.
